

Département de biologie

Mémoire de fin d'études

Présenté par

SAKHER Fatima Zohra

Et

KASSOUS Halima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE

Thème

*Le rôle de la levure *saccharomyces cerevisiae* dans la
fermentation des produits alimentaire*

Devant les jury

Président	Cheriguene Abderahime	prof	Univ.A.Benbadis.Mostaganem
Encadreur	ChougraniFadela	prof	Univ.A.Benbadis.Mostaganem
Examineur	Zabouri Younes	MCB	Univ.A.Benbadis.Mostaganem



Remerciement

Avant être commencer la présentation de ce travail, nous disons «AlhamdoliAllah », c'est grâce à Allah qui nous avons aidé et nous somme donné le courage, la santé et la patience que nous sommes arrivée là.

Puis nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études.

Nous tenons à exprimer nous vifs remerciements pour nous encadreur.

Madame : Choghrani Fadila

Qui nous a accompagnées durant tout ce travail, pour sa disponibilité, pour la confiance qu'elle a su accorder et pour ces conseils précieux.

Nous teignons à remercier les membres de jury

Monsieur : Cheriguene Abderahime et Monsieur : Zabouri Younes

Et bien sûr le responsable de la spécialité microbiologie fondamentale.

Monsieur : Bahri Fouad

Mes meilleurs remerciements à l'équipe de laboratoire de l'université «Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem» qui nous ont accueilli pendant notre stage.

Veillez trouvez ici le témoignage de notre respect le plus profond, nous remerciement vont aussi à tous nous professeur, enseignants et toutes les personnes qui nous ont soutenus jusqu'au bout, aussi à nous collègues de la promotion.

Dédicace

Après cette année je présente mon modeste travail à :

Mes chers parents,

KASSOUS Larbi

et

Belhadj Touatia

Grace à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Mon adorable mère Je prie le bon dieu de la bénir et de veiller sur eux en espérant qu'elle sera toujours fière de moi.

Mon père, malheureusement, nous ne sommes pas avec nous aujourd'hui. Si Dieu le veut, mon Seigneur, aie pitié.

J'espère qu'il ressent et voit ce qui se passe maintenant.

Mes chères sœurs et Mes chers frères

A tous mes professeurs

Leur générosité et leur soutien m'oblige de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

A tous mes amis et mes collègues, ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

KASSOUS Halima

Dédiasse

Je dédie ce travail à

Mon père

Pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Qu'il trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Mon adorable mère

Qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent. Que dieu la protège et lui donne bonne santé et qu'elle trouve ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

Mes sœurs

Pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragement incessant, d'être coopératif et d'assumer à ma place certaine de mes responsabilités familiales.

Ma belle-famille

Pour leur soutien, gentillesse et sympathie, pendant cette thèse parfois envahissante, que dieu les protège et leurs donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

SAKHËR Fatíma Zohra

Sommaire

Sommaire

- Liste des abréviations.....	1
- Liste des tableaux.....	2
- Liste des figures.....	3
-Résumé.....	4
-abstract	5
-résumé en arabe.....	6
-Introduction.....	7

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre 01 : les levures

I. Historique	10
II. Définition	10
III. Caractéristique microbiologique des levures	11
1. Habitat	11
2. Morphologie et structure	12
3. Reproduction	13
3.1. La reproduction asexuée	13
3.2. La reproduction sexuée	14
IV. Taxonomie.....	14
1. Classification des levures.....	15

Chapitre 02 : Caractéristique et identification de levure *Saccharomyces cerevisiae*

I. Définition	19
II. Classification	19
III. Condition de culture de levure <i>S.cerevisiae</i>	20
1- Besoin physico-chimique.....	20
2- Besoin nutritionnel.....	20
IV. Métabolisme de genre <i>S.cerevisiae</i>	21
V. Principales application de <i>S.cerevisiae</i>	22
VI. Données sur la fermentation et la production de la biomasse	23
1. Définition	23
2. Modalité de conduite de la fermentation	23
A. Fermentation (Fed-batch).....	23
B. Fermentation en continu	23
VII. Technique d'isolement des levures des aptitudes technologiques	24

1. Technique d'isolement des levures :	24
A. Milieu de culture liquide	24
B. Milieu gélosé pour la culture	24
2. Isolement différentiel de levure	24
A. Technique d'identification des levures :	25
a.1.caractères culturaux	25
a.2.caractères morphologiques	25
a.3. caractères biochimique et physique	26
3. Fermentation des sucres	26

Chapitre 03 : le rôle de la levure *S.caraviciae* dans la fermentation des produits alimentaire

I. Les boissons alcoolisées	29
1. La bière	29
1.1. Définition	29
1.2. Matière premier	29
1.3. Préparation	30
1.4. Caractéristique des souches de brasserie	32
2. Le vin	32
2.1. Historique	32
2.2. Fabrication du vin	33
2.3. Les Différents types de vinification	33
2.4. Les 2 types de fermentation de vin	34
A- Fermentation alcoolique	34
B- Fermentation malolactique	35
3. La Champagne	35
3.1. Préparation	35
II. Panification	36
1. Fabrication de pates levées et de pain	36
III. Les arômes	37
1. Définition	37
2. Les différents types d'arome	37
A. Les arômes naturels	37
B. les arômes de synthèse	37
C. les arômes de transformation	38
D. les arômes de fumée	38
E. les arômes issus des technologies	38
IV. Production d'éthanol	39

Chapitre 04 : La production des dattes

I.	Historique	41
II.	Le secteur dattier	41
	1. Le secteur dattier dans le monde	41
	2. Production dans l'Algérie	42
III.	Description botanique	44
IV.	La datte	46
	1. Description de datte	46
	2. Formation et maturation des dattes	47
	3. Composition biochimique de la datte	48
	A. Composition biochimique de la partie comestible (pulpe).....	48

Partie II : Etude Expérimentale

Matériels et méthodes

I.	Objectif et intérêt de l'étude	54
II.	Matériel végétal.....	54
III.	Matériel non biologique	54
IV.	Isolement de la levure <i>S.cerevisiae</i>	54
1.	Préparation de l'extraction de datte	55
2.	Préparation des dilutions.....	55
3.	Isolement sur milieu solide PDA	56
4.	Identification de la levure <i>S.cerevisiae</i>	56
	1. Etude des caractères culturaux	
	2. Etude de morphologie	

Résultats et discussions

1-	Etudes de caractéristiques culturales des souches isolées des dattes :.....	60
1-1.	Etude macroscopique	60
I-2-	Etude microscopique	60
I-3-	Aptitude de la filamentation	60

Conclusion	65
-------------------------	-----------

-Références bibliographiques

-Annexes

Liste des abréviations

- pH** : Potentiel hydrogène
- S.Cerevisiae** : *Saccharomycète cerevisiae*
- CO2** : Dioxyde de carbone
- PDA** : Potato dextrose agar
- YPG** : Yeast Pepton Glucose
- YM** : Yeast Malts
- BYA** : Buffered Yeast agar
- OGA** : Oxytétracycline Glucose agar
- ML** : Millilitre, unité de mesure le volume
- WLN** : Wallenstein nutriment
- WLD** : Wallenstein différentiel
- GMA** : Gornmeal agar ou mais agar

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Pages
Tableau n°01	Classification des levures	16
Tableau n°02	La production algérienne de dattes en tonnes.	43
Tableau n°03	Stades d'évolution et appellation de datte	47
Tableau n°04	Provenance des échantillons biologiques utilisés pour l'isolement des levures <i>S.cerevisiae</i> .	54
Tableau n°05	Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche T 01. Dans le milieu PDA	61
Tableau n°06	Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche T 02. Dans le milieu PDA	62
Tableau n°07	Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche T 03. Dans le milieu PDA	63
Tableau n°08	Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche 03. Dans le milieu YPG	64

Liste des Figures

Figures	Titre	Pages
Figure n°01	Structure cellulaire des levures	11
Figure n°02	Morphologie des cellules de levure et des mycéliums.	12
Figure n°03	Cycles de reproduction de la levure	13
Figure n°04	Production mondiale des dattes	42
Figure n°05	Répartition de production des dattes dans le monde	42
Figure n°06	Coupe schématique d'un palmier dattier	45
Figure n°07	Stades de maturation de la datte	48
Figure n°08	Technique de transformation et de valorisation des dattes	51

Résumé

Les dattes peuvent être définies comme le fruit du désert. Ce dernier peut être valorisé pour le développement de l'agriculture du désert en Algérie et dans les pays d'Afrique du Nord en les transformant. En effet, convertir les dattes par des méthodes biotechnologiques permet d'obtenir d'autres produits à valeur ajoutée et facile sur le marché, dont le plus important est peut-être le jus de dattes.

Le jus de datte contient un pourcentage élevé de sucre, ce qui peut être un milieu approprié pour les levures caractérisées par la fermentation alcoolique de la transformation du sucre en alcool.

Dans notre travail de recherche, nous avons isolé plusieurs souches de levures à partir de trois types différentes de dattes algériennes dont la Deglet Nour.

Les résultats sont positifs, et Deglet Nour contient de la levure du genre *Saccharomyces cerevisiae*.

Cela peut s'expliquer par la nature des dattes Deglet Al-Noor, qui sont riches en sucres, et sont considérées comme un milieu de vie adapté à la croissance de levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Mots clés : *Saccharomyces cerevisiae*, Levure, Fermentation, dattes

Abstract

Dates Can Be defined as the fruit of the desert. The latter can be valued for the development of desert agriculture in Algeria and in the countries of North Africa by transforming them. Indeed, converting dates by biotechnological methods allows to obtain new products with added value and easy on the market, the most important of which is perhaps date juice.

Date juice contains a high percentage of sugar, which can be a suitable medium for yeasts characterized by alcoholic fermentation from the transformation of sugar into alcohol. In our research, we isolated several yeasts from three different types of Algerian dates, including Deglet Nour. The results are positive, and Deglet Nour contains the yeast of the genus *Saccharomyces cerevisiae*. This can be explained by the nature of Deglet Al-Noor dates, which are rich in sugars, and are considered a suitable living environment for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Key words : *Saccharomyces cerevisiae*, Yeast, fermentation, date

ملخص

يمكن تعريف التمور على أنها فاكهة الصحراء. يمكن تقييم هذه الأخيرة من أجل تطوير و تنمية الزراعة الصحراوية في الجزائر وفي بلدان شمال إفريقيا من خلال تحويلها. وبالفعل ، فإن تحويل التمور بطرق التكنولوجيا الحيوية يسمح بالحصول على مواد جديدة ذات قيمة مضافة ويسهل طرحها في السوق ، وربما يكون أهمها عصير التمر. يحتوي عصير التمر على نسبة عالية من السكر ، والذي يمكن أن يكون وسيطاً مناسباً للخمائر التي تتميز بالتخمير الكحولي من تحول السكر إلى كحول. في بحثنا هذا ، قمنا بعزل عدة خمائر من ثلاثة أنواع مختلفة من التمور الجزائرية ، بما في ذلك دجلة نور. كانت النتائج إيجابية ، حيث تحتوي دجلة نور على خميرة من جنس *Saccharomyces cerevisiae* يمكن تفسير ذلك من خلال طبيعة تمور دجلة النور الغنية بالسكريات ، وتعتبر بيئة معيشية مناسبة لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* .

Introduction

La fermentation est un phénomène naturel, se produisant lors de la décomposition de la matière organique.

Par ailleurs, l'utilisation de la fermentation par l'homme a débuté de manière empirique. Elle était utilisée initialement pour conserver les denrées, préparer du pain, des boissons alcoolisées... Les études montrent que les Sumériens (Basse Mésopotamie), l'utilisaient déjà 8000 ans avant JC. (Bourgeois, 1996).

En 1789, A. Lavoisier écrit le premier article sur la fermentation. Il décrit la « fermentation vineuse » comme une division du sucre en deux portions (alcool et acide carbonique) suite à la réaction d'un « ferment ». De nombreux scientifiques vont alors se lancer dans des recherches sur la fermentation et avancent différentes hypothèses quant à ses causes et déclencheurs.

En 1836, trois scientifiques découvrent que la levure est un organisme vivant se reproduit par bourgeonnement.

C'est Pasteur, en 1857 qui établira que la fermentation alcoolique est due à l'activité métabolique de *Saccharomyces cerevisiae* (levure de bière). Il étudiera ensuite les fermentations acétique, butyrique et lactique, et démontrera que la fermentation est une réaction chimique et biologique, en cultivant les bactéries et levures mises en cause. C'est par ailleurs lui qui donnera la première théorie générale des fermentations : « toute fermentation d'une solution de sucre ou de matière organique résulte de l'activité métabolique d'un micro-organisme spécifique, et s'accompagne de la formation de produits caractéristiques (alcools, acides, cétones et gaz carboniques) ». (Guiraud, 1998).

De nos jours la fermentation est utilisée dans de nombreux procédés industriels, et est présente dans l'alimentation du monde entier.

Certaines études ont montré la possibilité d'utiliser une souche *Saccharomyces cerevisiae* dans plusieurs domaines tel que dans la fabrication des produits alimentaires (boisson alcoolisée, produits laitiers...) aussi dans le domaine pharmaceutique, médicale et cosmétique ... (anonyme)

En raison de ses multiples utilisations et de sa méthode largement répandue, nous avons décidé de l'étudier de près afin de connaître ses caractéristiques et nous avons choisi d'être notre étude sur certains types de dattes algérienne.

Partie Bibliographique

Chapitre 1

Les levures

I. Historique :

Les levures sont les premiers micro-organismes utilisées par L'homme depuis des millénaires, en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation (**Bouix et Al, 1991, Pol, 1996**).

Elles sont également les premiers micro-organismes à être observés au microscope par A. Van Leeuwenhoek en 1680 qui les a dessinées. Ce n'est qu'avec les travaux de Pasteur (1866-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence. A la même époque, la levure fut à l'organe du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Büchner. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d eucaryotes (**Pol, 1996**).

La levure est l'organisme modèle de référence, sur lequel le plus d'expérience ont été

Conduites, et donc le plus de données ont été fournies. En 1996, le génome *Saccharomyces cerevisiae* est entièrement séquencé. Par son métabolisme fermentaire des glucides, elle est utilisée plus de huit millénaires dans le brassage des bières dans Sumeria et Babylone, dans la culture du raisin en Géorgie et pour lever la pâte en Egypte (**Smidtas, 2007**).

Le terme « levure » vient du latin « levare », faisant référence à la capacité de faire lever le pain en produisant du CO₂ en conditions anaérobiques et de fermenter le sucre (**Kutzman et Al, 2011**).

II. Définition :

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, souvent plus grandes que les bactéries, de forme ovoïde ou sphérique (1 à 5 micromètres de large sur 5 à 30 de long). Certaines levures croissent sous forme de filaments mais la plupart bourgeonne puis se scinde en deux cellules filles. La majorité d'entre elles appartient au groupe Eumycètes Ascomycètes (**Hunter, 1977**).

La levure étant eucaryote, son matériel génétique est composé de 16 chromosomes linéaires, situés dans le noyau

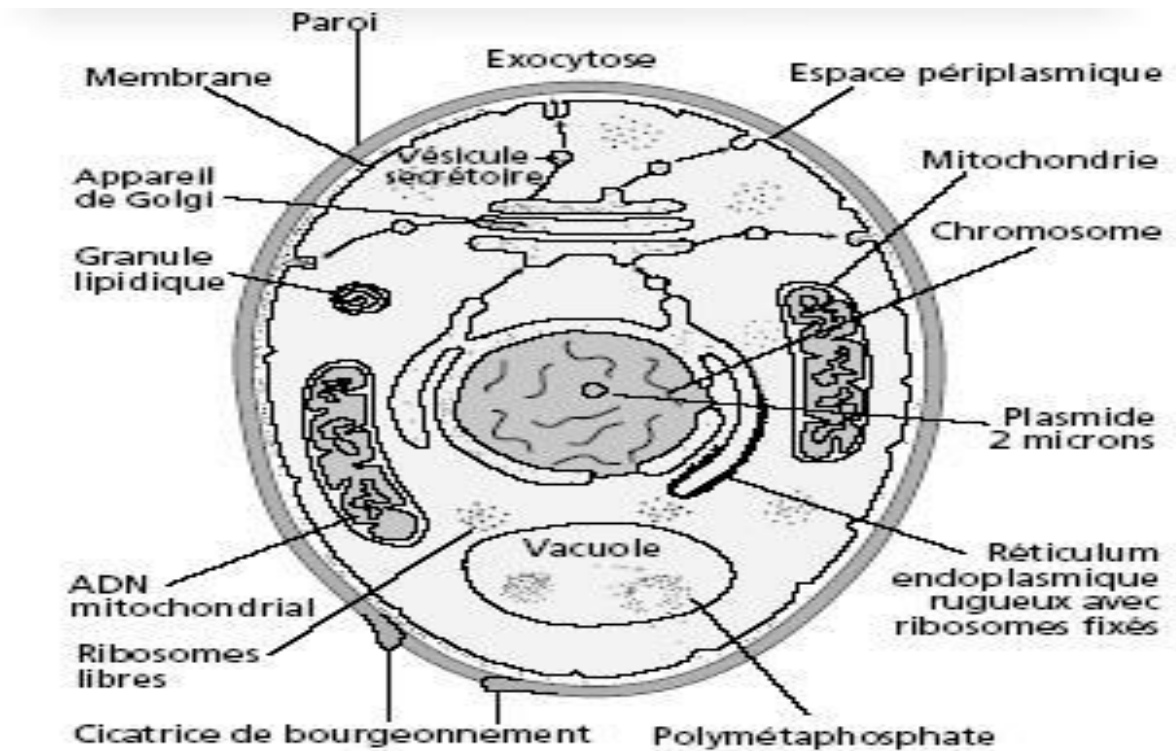


Figure 01: Structure cellulaire des levures

III. Caractéristiques microbiologiques des levures

Les levures sont des eucaryotes chimio -hétérotrophe, c'est-à-dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimiques tels que les sucres, faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (Guiraud et Al, 1998)

1- Habitat :

Les levures sont des espèces ubiquitaires, largement distribuées dans la nature. Elles se rencontrent sur les végétaux riches en sucre directement assimilables (Bouix et Al, 1991)

En effet, les milieux fortement concentrés en sucre représentent un de leur environnement préférés, comme les sirops, le miel, les fleurs et de nombreux fruits (les pommes, les raisins) (Leclerc, 1975, et Al 1984).

On trouve également des levures à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants, dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (Leveau et Al 1993).

Par ailleurs, le sol constitue un large réservoir assurant leur survie dans des conditions défavorables (Leclerc, 1975)

2-Morphologie et Structure :

Les levures sont des cellules eucaryotes. Elles présentent une structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de golgi et de plus d'un chromosome (*saccharomyces cerevisiae* a 16 chromosomes) (Labrecque, 2003) Leur morphologie est d'une grande importance taxonomique. Les cellules sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques, allongées, apiculées ou de formes plus spécifiques : ogivales (Dekkera ,1996),

en forme de bouteille (genre *Pityrosporium* (= *Malassezia*)), triangulaires ou en forme de citron :(*Hanseniaspora*) (Bourgeois et Al, 1996)

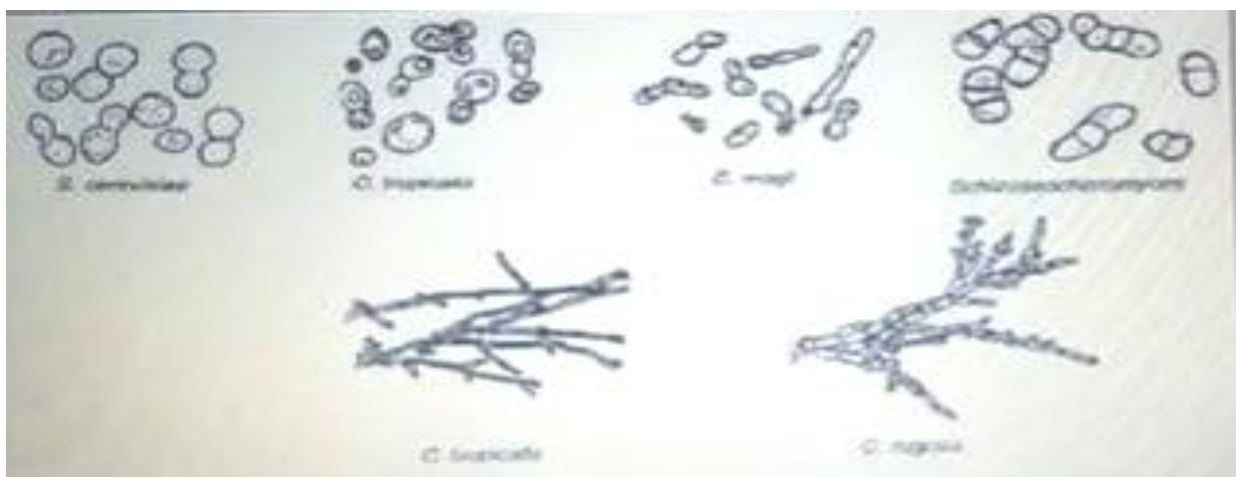


Figure 02 : Morphologie des cellules de levure et des mycéliums.

3. Reproduction :

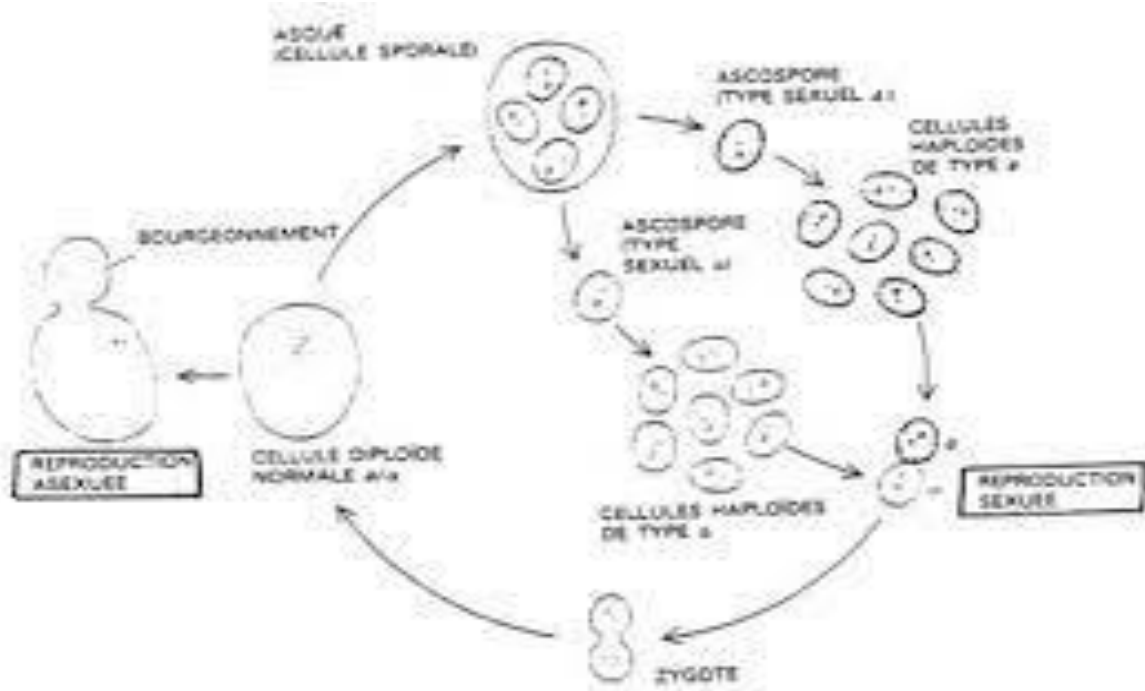


Figure03 : Cycles de reproduction de la levure

Les levures se reproduisent selon deux modes en général :

3.1 La multiplication asexuée :

Toujours présente, se fait essentiellement par bourgeonnement ([Guinet et Al, 1994](#))

Aux extrémités des grands axes des cellules si elles sont ovoïdes ou allongées,, (et rarement par scissiparité). Il peut aussi être multilatéral, ce qui est une caractéristique de *Saccharomyces* ([Gournier et Al, 1994](#)).

Lors d'un bourgeonnement (mode holoblastique), le noyau migre en périphérie, s'infiltré dans un point végétatif (bourgeon) et se sépare de la cellule mère en y laissant une cicatrice sous la forme d'un petit cratère, au niveau duquel les échanges avec le milieu extérieur sont inhibés. En fait, il semble que la cellule ne puisse réaliser plus de 25 bourgeonnements car, Au-delà, elle meurt par manque d'échanges avec le milieu. La cellule fille est plus petite ([Guinet et Al, 1994](#)).

3.2. La reproduction sexuée :

Dans un milieu défavorable (riche en acétate, pauvre en nutriments, températures extrêmes...) la cellule diploïde de levure va sporuler c'est à dire produire 4 ou 8 cellules haploïdes, nommées « ascospores » chez les Ascomycètes et « basidiospores » chez les Basidiomycètes, qui resteront en vie ralentie. Si les conditions du milieu redeviennent favorables, les spores sont libérées, vont germer, croître et commencer un nouveau cycle de multiplication végétative sous la forme haploïde ou diploïde (Guinet et Al, 1994)

IV. TAXONOMIE :

La classification des levures évolue constamment : entre 1952, 1970 et 1984 (Egervanru, 1992).

La dernière classification date de 1990. Elle a été réalisée par BARNEY et al. Quelques exemples de modifications : *Saccharomyces cerevisiae* regroupe maintenant plusieurs espèces très anciennes de *Saccharomyces* devenus synonymes. Ainsi, *Saccharomyces carlbogensis* est devenu *Sutvarum* en 1970; il en est de même du couple *Kluyveromyces marxianus* / *Kfragilis* (Galzy et Al, 1996)

On remarque aussi la fusion des genres *Tornlopsis* et *Candida*,

Depuis 1984, *S.Cerevisiae*, très utile en brasserie, englobe aussi bien les levures de fermentation haute que les levures de fermentât on basse (Guinet et Al, 1994)

Il est souhaitable à l'avenir d'utiliser la nouvelle nomenclature proposée par BARNEY même si de nombreux industriels gardent par habitude les noms anciens (Galzy et Al, 1996)

Une autre espèce retiendra notre attention : *Geotrichum candidum*.

Sa position au se du groupe des levures est couramment admise (Rose et al, 1987-Barney et Al, 1990).

Cependant, certains auteurs continuent à classer les représentants du genre *Geotrichum* et des genres voisins *trichosporon*, *Endomyces*. Dans un groupe à part, celui des champignons levures formes, intermédiaire entre les levures et les moisissures (Hermier et Al, 1992).

Les levures sont regroupées en 2 ou 3 grandes classes selon leur capacité ou non à élaborer des organes de reproduction sexuée (Larpent, 1991)

1. Classification des levures :

La classification de référence est actuellement celle de (Kreger et Al, 1984) qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification ;

En particulier, de nouveaux critères taxonomiques sont pris en considération pour permettre des études plus rigoureuses. Il s'agit d'un groupe hétérogène, qui d'un point de vue taxonomique, comprend une soixantaine de genres et près de 500 espèces (Kreger et Al, 1984). Les levures se divisent en 3 grandes classes :

- Les ascomycètes : genres sexués, où les produits de la méiose ou ascospores sont endogènes et enfermés dans une structure issue du zygote : l'asque.
- Les basidiomycètes : genres sexués, où les produits de la méiose ou basidiospores (chez les levures sont souvent appelés ballistospores) sont exogènes et émis à l'extérieur du zygote
- Les deutéromycètes ou levures imparfaites : genres asexués ne se multipliant que par reproduction végétative.

Tableau n°01 : Classification des levures

Les levures ascomycètes	levures basidiomycètes	Les levures imparfaites
<i>Saccharomycetaceae</i>	Levures formant des	<i>Sporobolomycetaceae</i>
1. <i>Schizosaccharomycetoidea</i>	teliospores	<i>Bullera</i>
<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Leucosporidium</i>	<i>Sporobolomyces</i>
2. <i>Saccharomycetoidea</i>	<i>Rhodospidium</i>	<i>Cryptococcaceae</i>
<i>Ambrosiozyma</i>	<i>Sporidiobolus</i>	<i>Aciculoconidium</i>
<i>Arthroascus</i>	<i>Filobasidiaceae</i>	<i>Brettanomyces</i>
<i>Arxiozyma</i>	<i>Filobasidiella</i>	<i>Candida</i>
<i>Citeromyces</i>	<i>Filobasidium</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Clavispora</i>	Levure non classées	<i>Eeniella</i>
<i>Cyniclomyces</i>	<i>Sterigmatosporidium</i>	<i>Fellomyces</i>
<i>Debaryomyces</i>		<i>Kloeckera</i>
<i>Dekkera</i>		<i>Malassezia</i>
<i>Guilliermonedella</i>		<i>Oosporidium</i>
<i>Hansenula</i>		<i>Phaffia</i>
<i>Issatchenkia</i>		<i>Rhodotorula</i>
<i>Kluyveromyces</i>		<i>Schizoblastosporion</i>
<i>Lodderomyces</i>		<i>Sterigmatomyces</i>
<i>Pachysolen</i>		<i>Sympodiomyces</i>
<i>Pachytichospora</i>		<i>Trichosporon</i>
<i>Pichia</i>		<i>Trigonopsis</i>
<i>Saccharomyces</i>		
<i>Saccharomycopsis</i>		
<i>Schwanniomyces</i>		
<i>Sporopachydermia</i>		
<i>Stephanoascus</i>		
<i>Torulasporea</i>		
<i>Wickerhamiella</i>		
<i>Wingea</i>		
<i>Yarrowia</i>		
<i>Zygosaccharomyces</i>		

3.Lipomycetoideae <i>Lipomyces</i> 4.Nadsonioideae <i>Hanseniaspora</i> <i>Nadsonia</i> Saccharomyces <i>Wickerhamia</i> 5.Spermophthoraceae <i>Coccidiascus</i> <i>Metschnikowia</i> <i>Nematospora</i>		
---	--	--

Chapitre 2

**Caractéristiques et
identification de levure
*Saccharomyces cerevisiae***

I. Définition :

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes immobiles faisant partie du groupe des champignons qui se distinguent par leurs caractères unicellulaires et l'absence d'un vrai mycélium (Guiraud, 1998)

Les levures, et en particulier *Saccharomyces cerevisiae*, sont des microorganismes très utilisées comme organismes modèles en biologie cellulaire et en génétique (Goffeau et Al, 1996, Thuriaux, 2004).

Utilisée par L'homme depuis fort longtemps, *S.cerevisiae* a été découverte, isolée et identifier au milieu du XIX éme siècle.

S.cerevisiae fut communément appelée levure de bière ou levure de boulanger, dont le nom systématique fait référence au saccharose : ((saccharo)) qui signifie sucre, Myces signifie ((champignon)). *Cerevisiae* fait référence à ((cervoise)) qui veut dire bière , c'est un terme utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures qu'ont utilisé pour la fermentation (Larpent et Al, 1985) .

II. Classification :

Les levure *Saccharomyces* appartiennent au règne des champignon , à la division (embranchement) des *Ascomycota* (ascomycètes), la sous – division des saccharomycotina , la classe des saccharomycètes , l'ordre des saccharomycétales et la familles des saccharomycétaceae (Boze et Al , 2008)

Reed (1981) et Reppler (1983) ont regroupé les levures en sept catégories selon leurs utilisations :

- ✓ La levure de boulangeries et produit panification.
- ✓ Levure de brasseries.
- ✓ Levure de vinification.
- ✓ Levures de distillerie et spiritueux.
- ✓ Levures aliments.
- ✓ Produit dérivés des levures (autolysats)
- ✓ Alcool industriel et carburant selon (Dujon ,2010) la classification de la levure

S.cerevisiae est la suivante :

- Règne : Fungi
- Embranchement : Ascomycètes
- Classe : saccharomycètes
- Ordre : saccharomycétales
- Famille : saccharomycétaceae
- Genre : *Saccharomyces*
- Espèce : *Saccharomyces cerevisiae*

III. Condition de culture de la levure *S.cerevisiae* :

La croissance d'un microorganisme peut être considérée comme une série d'interaction entre les cellules et l'environnement (Bouix et al, 1993)

1 / Besoins physico –chimique :

- A- Le pH :** *S.cerevisiae* présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas .elle préfère un **pH** compris entre 4-4,5 (Revuz ,1979)
- B- La température :** la température de croissance set viable suivant les espèces de levures .la Température convenable pour la levure *S.cerevisiae* est entre 25 °c et 35 °c .ce sont des mésophiles (Larpent et Al, 1985)
- C- L'aération :** la levure s'adapte à deux modes de vie en présence et en absence d'oxygène, et pour le but d'homogénéiser la circulation dans la fermenteur il est nécessaire d'adapter d'oxygène sous forme d'aire filtré par coton (Revuz , 1979)
- D- La pression osmotique :** la levure *S.cerevisiae* est une espèce osmophile qui développe sur des milieux à forte concentration en sucres et en sel mais avec un métabolisme lent au contraire de certaines espèce (Noui , 2001).

2 / Besoins nutritionnels :

Le milieu de culture doit apportés tous les éléments nécessaire aux systèmes cellulaires et aux besoins énergétique de la levure.

A - L'eau : la souche *S.cerevesiae* utilise les glucides simple (hexoses) et des disaccharides mais elle est incapable d'utilisé les pentoses.

B - L'azote : toutes les levures sont capables d'utiliser l'azote sous forme d'ions d'ammonium et l'urée pour constituer des protéines ; acide nucléique et des vitamines (**Larpen, 1992**) selon (**Bourgeois et Al, 1996**) la levure *S.cerevisiae* est incapable d'utiliser le nitrate .

C- Les sels minéraux :

- ✓ **Potassium :** le potassium est l'élément minéral quantitativement le plus important dans la levure
- ✓ **Phosphore :** se trouve inclus dans les acides nucléiques et les nucléosides, la concentration en ion phosphate (PO_4^{3-}) régule la synthèse des lipides et des glucides.
- ✓ **Soufre :** 60/100 du soufre est incorporé dans les protéines et sous forme inorganique libre les *Saccharomyces* sont également capables d'utiliser le sulfite et le thiosulfate
- ✓ **Magnésium :** il est nécessaire au bon fonctionnement d'une certaine d'enzyme de métabolisme (**Bouix, 1993**)
- ✓ **Calcium :** le calcium indispensable à la croissance mais joue un rôle de stimulateur chez *S.cerevisiae*

D-Les oligo-éléments : sont nécessaires à l'état de trace, de l'ordre du mg/l du milieu de culture mais sont indispensables de levure , aussi joue un rôle dans l'activation de certaines réactions enzymatiques ainsi dans la construction de certaines vitamines et coenzyme (**Bougeois et Al, 1996**)

Les vitamines : l'apport de vitamines est indispensable pour assurer une bonne croissance et une meilleure activité fermentaire de la levure pour *S.cerevisiae*, les besoins en biotine sont de l'ordre de 1 mg/L. la quantité nécessaire en vitamines B6 est de 6.25 mg/L (**Bouix et Al, 1993**)

IV. Métabolisme de Genre *Saccharomyce* :

La composition biochimique des extraits de *S.cerevisiae* repose essentiellement sur les protéines, les lipides, les hydrates de carbone et les acides nucléiques (**Fritsche, 1972**).

Cette levure utilise plusieurs éléments, en faibles quantités, indispensables à son métabolisme tels que l'azote, le soufre, le phosphore, certains acides aminés, des vitamines et des oligo-éléments affectant ainsi les capacités fermentaires et la croissance de la levure (**Dombek et al, 1986, Ferreira et al, 2004**). Les levures sont capables d'utiliser deux voies métaboliques :

1 -**Métabolisme oxydatif** : les levures utilisant le glucose en présence d'oxygène, par conséquent, leur métabolisme est exclusivement respiratoire et le pyruvate est oxydé par le cycle de Krebs. Cette voie métabolique est très énergétique et permet aux levures une importante multiplication. En plus des sucres simples, certaines levures utilisent d'autres glucides (mono, di ou tri saccharides et des polysaccharides comme l'amidon), mais aussi des alcools, des acides et des alcanes (Larpent, 1991).

2-**Métabolisme fermentaire** : en plus du métabolisme oxydatif, certaines levures peuvent privilégier une dégradation des glucides par un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation d'éthanol et de CO₂. En plus de ces composés majoritaires, des alcools, des aldéhydes, des esters, des acides sont formés en plus petites quantités. Ce métabolisme est moins énergétique que le métabolisme oxydatif (Guiraud et Al, 2004).

V. Principales applications de *Saccharomyces cerevisiae* :

Les levures représentent certainement le groupe le plus important de micro-organismes exploités par l'homme. Depuis la plus haute antiquité, elles ont joué un rôle de premier ordre dans l'alimentation humaine : vinification, panification, brasserie, fromagerie. Elles sont des champignons qui peuvent être développés industriellement soit, pour :

- Leur utilisation en tant qu'agents de fermentation, la production industrielle la plus importante dans ce domaine étant celle la levure de boulangerie (panification).

-leur utilisation à l'état mort en tant qu'aliment comme source de protéines et de vitamines.

(Staron, 1977).

Aussi dans la production des enzymes (l'invertase, lactase, lipase et les amylases) (Simon et Al, 1970).

Du glycérol, certaines vitamines et solvants, et aussi à la revalorisation de déchets agricoles, industriels et à la production des protéines (Scriban, 1984 ; et al, 1995).

Cette levure est très souvent employée sous forme immobilisée pour la production de biomasse, d'éthanol et dans la " prise de mousse " du champagne (D'Alteriis et Al, 1998).

Elle aussi également largement utilisée comme source cellulaire pour la production de molécules d'intérêt (Mercier, 1997 Al, 2002).

Dans le domaine pharmaceutique et médical, elle est utilisée pour la production des vaccins et des pro-biotiques (Rose et Al, 1971).

Elle joue également un rôle clé dans l'industrie chimique pour la synthèse de produits de commodité comme l'acide lactique pour la production des plastiques et dans le domaine des énergies renouvelables et des biocarburants (bioéthanol) (Parrou et Al, 1997).

VI. Données sur la fermentation et la production de la biomasse.

1 / Définition :

La fermentation est tout processus métabolique au cours duquel est utilisé un microorganisme spécifique pour la libération de l'énergie. (Gaillard et Al, 1995).

La fermentation chez les *Saccharomyces* peut être représentée par l'équation de bilan global suivante :



2/Modalités de conduite de la fermentation :

La fermentation est assurée selon deux modalités : Fermentation en discontinu : Est appelée aussi «**batch**» consiste à cultiver les microorganismes dans une cuve «milieu fermé non renouvelé» pour les récolter ou extraire les produits formés après une «période de temps déterminée».

A / -Fermentation «fed-batch»: c'est un processus où le fermenteur est alimenté par des ajouts successifs de milieu ou de substrat ceci permet d'éviter les problèmes d'inhibition liées par exemple à la toxicité d'un substrat.

La culture en « Fed-Batch » est utilisée dans l'industrie lorsque l'on veut optimiser l'apport d'un nutriment susceptible d'avoir un effet réducteur sur la croissance. (Bourat, 1992).

B / -Fermentation en continu : Elle est caractérisée par un apport continu du milieu nutritif et un soutirage d'une quantité égale du milieu réactionnel, c'est-à-dire le milieu nutritif est introduit avec un débit D dans le fermenteur de volume V, tandis que le fluide soutiré est évacué avec le même débit D. (Noui, 2001).

VII. Techniques d'isolement des levures et étude des aptitudes Technologiques

1 / Techniques d'isolement des levures : La plupart des aliments contenant des levures contiennent également des bactéries et parfois des moisissures. L'isolement des levures en vue de leur identification ou de leur numération peut donc demander l'emploi de milieux sélectifs dotés de propriétés antibactériennes et si possible antifongiques.

A / Milieux de culture liquide :

- milieu YG.
- milieu YPG ou YM.
- milieu de Sabouraud.

A / Milieux gélosés pour la culture :

Le milieu « pomme de terre » glucosé gélosé (PDA).

- Le milieu extrait de levure tamponné (BYA) ou milieu de Davis.
- Le milieu OGA à l'extrait de levure glucosé.

L'isolement peut être rendu sélectif par acidification du milieu (pH 3.5 à 4.5). Cette acidification est efficace vis-à-vis de nombreuses bactéries mais les moisissures et les bactéries acidophiles se développent dans ces conditions. Il est donc nécessaire d'utiliser d'autres agents, en particulier des antibiotiques et antifongiques spécifiques pour les produits contenant ces germes.

Le développement des bactéries peut être inhibé par l'adjonction de : chloramphénicol (0.5mg/ml), Pénicilline/ Streptomycine (20µ/ ml, 40µ/ ml) et Terramycine (0.1 mg/ ml). Les agents antimicrobiens sont en général stérilisés à part par filtration et rajoutés stérilement au milieu en surfusion ([Guiraud et Al,1980](#)).

2/ Isolement différentiel de levures :

Le problème consiste à mettre en évidence d'une souche recherchée au sein d'une population de levures. Les souches *Saccharomyces cerevisiae* peuvent être mis en évidence sur les milieux WLN ou WLD (wallerstein nutrient ou wallerstein différentiel) contenant du vert de bromocrésol. Les boîtesensemencées sont incubées à 25°C, trois jours.

Seules les souches de *Saccharomyces cerevisiae* sont incapables de réduire le colorant et forment des colonies lisses vert sombre alors que les souches sauvages donnent des colonies blanches ou faiblement colorées ou plissées. Aussi les *Saccharomyces* et en particulier *Saccharomyces cerevisiae* ne peut utiliser la lysine comme seule source d'azote alors que les autres levures (surtout souches sauvages) le peuvent généralement. Les méthodes de détection par culture sur milieux sélectifs peuvent être améliorées du point de vue de la sensibilité et de la rapidité par l'utilisation des techniques de filtration sur membrane et d'examen microscopique des micro-colonies. (Guiraud et Al,1980)

A / Techniques d'identification des levures :

L'identification des levures fait appel à des caractères cultureux et morphologiques, à la sexualité et à des critères physiologiques. (Guiraud et Al,1980)

A/ 1.Caractères cultureux :

Aspect en milieu liquide : Les caractères cultureux sont étudiés en milieu liquide (milieu YG, YPG ou YM). Les cultures sont incubées 2 ou 3 jours à 25°C puis laissés à la température du laboratoire pendant une semaine L'aspect de la culture présente les caractères suivants : dépôt poussiéreux, dépôt granuleux ou mie de pain, voile lisse, croissance le long des parois, trouble, suspension ou îlots. (Guiraud et Al, 1980)

- **Aspect en milieu solide :**

Les caractères cultureux sont étudiés en milieu solide incliné les mêmes milieux liquides précédents gélosés à 2% (Guiraud et Al,1980) Les espèces de levures ont été inoculées en boîte de Pétri par la méthode de stries, incubées 3 jours à 25°C puis laissées à température ambiante une semaine. La culture est présentée selon les caractères suivants : forme de la colonie, couleur du pigment, opacité et surface.

A / 2.Caractères morphologiques :

Morphologie cellulaire normale et Mode de multiplication végétative :

Ces caractères sont étudiés par examens microscopiques qui sont effectués sur les cultures ayant permis l'étude des caractères cultureux. Les examens ont lieu à partir du milieu liquide et du milieu solide au bout de 3 jours et de 1 mois. La préparation microscopique utilisée est l'état frais.

Objectif (10 puis 40). L'étude microscopique permet de définir la forme, l'arrangement et le mode de divisions des cellules ainsi que de mesurer leur taille. (Guiraud et AL,1980). L'observation au microscope de lames colorées au bleu de méthylène nous a permis de définir les formes : sphériques, ovoïdes, allongées, cylindriques, en forme de citron ou triangulaire.

(Larpen, 1991) La reproduction végétative peut se faire par bourgeonnement ou scissiparité ou quelque fois combinaison des deux. (Bouix et Al, 1993). Certaines levures se reproduisent végétativement par scissiparité. Il y a formation d'un septum sans aucune construction de la paroi de la cellule. Quand le processus est terminé, les cellules filles peuvent se séparer.

Dans certaines de culture, les levures peuvent donner des formes mycéliennes. Les cellules bourgeonnantes peuvent rester attachées les unes aux autres et la chaînette de cellules ainsi constituée est un pseudo mycélium. Dans un pseudo mycélium, il n'y a pas de cloisons visibles, les extrémités des cellules intercalaires sont courtes et la cellule terminale est plus courte on approximativement égale à la cellule adjacente (Larpen, 1991).

- **Test de filamentation** : Les filaments sont parfois mis en évidence par l'examen microscopique à l'état frais. La recherche systématique de l'aptitude à la filamentation d'une souche doit cependant s'effectuer après culture sur un milieu spécifique tel que le YPGA. Les levures sont inoculées par une strie sur les lames recouvertes de milieu YPGA et placées dans une boîte de pétri en verre stérile. La lame recouverte d'une lamelle puis incubation une semaine à 25°C. Comme il existe d'autres milieux spécifiques tels que : GMA (Gornmeal agar ou mais agar), PDA (potato dextrose) (Guiraud et al, 1980).
- **Aptitude à former des spores** : C'est un caractère fondamental qui permet le classement des levures dans une des trois familles, mais il est difficile à mettre en évidence à partir de vieilles souches :

- Rondes chez *Saccharomyces*. (Guiraud et Al, 1980).

A/ 2. Caractères biochimiques et physiologiques :

Les caractères morphologiques et sexuels permettent généralement d'identifier le genre alors que les caractéristiques biochimiques permettent de définir l'espèce de la levure.

(Bouix et Al, 1993)

3 / .Fermentation des sucres : La capacité ou l'incapacité des levures à fermenter les hydrates de carbone en éthanol et CO₂ est la caractéristique la plus utilisée pour différencier les espèces à l'intérieur, d'un genre. Néanmoins elle peut être appliquée pour la définition de certains genres. L'étude du métabolisme des glucides par la voie de fermentation est réalisée en milieu liquide. Les milieux sont répartis en tubes renfermant chacun une cloche de Durham. Six sucres sont utilisés : glucose- galactose- maltose- saccharose- lactose- raffinose. Les tubes sont incubés à 25°C 2 à 3 jours pour une première lecture. Puis des

lectures sont faites tous les deux jours pendant 2 semaines. La fermentation se traduit par l'observation d'un dégagement gazeux dans la cloche de Durham. **(Bouix et Al, 1993).**

Chapitre 3

**Le rôle de la levure *S.cerevisiae*
dans la fermentation des
produits alimentaires**

I. Boissons alcoolisées

La fermentation alcoolique sous l'effet des levures transforme le glucose en éthanol et en dioxyde de carbone. La fabrication de l'alcool est un processus complexe qui fait souvent intervenir plusieurs microorganismes. La levure *Saccharomyces cerevisiae* est utilisée principalement pour fabriquer les 3 boissons les plus consommées : le vin et la bière et la champagne.

1. LA BIÈRE

1.1.DÉFINITION

La bière est obtenue par fermentation alcoolique d'un moût (jus sucré) fabriqué par Macération de malt d'orge.

La fermentation est obtenue spontanément (bière belge du type gueuze) par *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlbergensis*. ou plus souvent par ensemencement massif du moût stérile par des souches pures sélectionnées et conservées par repiquage : levures de fermentation haute ou basse. Elles transforment les sucres en éthanol en 2 étapes : la fermentation principale (90%) puis la fermentation de garde. L'épuisement des glucides fermentescibles a lieu dans un ordre précis :

Glucose => fructose => maltose => maltotriose.

1.2. MATIÈRES PREMIÈRES

-**Eau** de minéralisation spécifique au type de bière préparée.

-**Malt** : constituant essentiel donnant la flaveur de la bière

100 kg d'orge produisent 80 kg de malt

L'orge est une céréale riche en sucre, c'est pourquoi elle a été choisie pour être fermentée.

-**Matières amylacées** : maïs, riz, sorgho, blé, orge, triticales, seigle, avoine, Mill et

En France, la loi autorise l'ajout de 30 % de matières amylacées par rapport au poids du malt, alors qu'en R.F.A., la préparation de la bière doit être réalisée à partir de 100% de malt.

-**Matières amères : houblon**. Anciennement utilisé exclusivement pour ses propriétés antiseptiques vis à vis des agents d'altération, on lui reconnaît aujourd'hui des propriétés aromatisants, amérisants et facilitants de la clarification. Seules les fleurs femelles « cônes » qui sécrètent la lupuline, une poudre jaune, sont utilisées.

-**Levure** : c'est le seul ingrédient qui reste secret chez les brasseurs. Le choix de la levure est important : elle doit avoir une cinétique de fermentation rapide, floculer modérément

Pendant la fermentation et conduire à une saveur finale équilibrée.

Pour faire 1 litre de bière, il faut :

- 7 à 15 litres d'eau pure
- 120 - 200 g d'orge
- 2 g de houblon
- 1 cl de levure.

1.3. PREPARATION

***Maltage** : Après germination des grains d'orge, ceux-ci sont chauffés (touraillage). Cette Orge germée et grillée s'appelle « malt vert » et donne sa couleur à la bière. C'est au cours de la germination que sont produites ou activées les enzymes responsables des réactions lors du brassage : α et β amylases, gluconates, hémicelluloses, peptidases, protéases. Oxydases (les protéases et les peptidases sont tout aussi importantes que les amylases car elles transforment les matières protéiques des grains d'orge en acides aminés qui servent plus tard à la nutrition des levures).

***Brassage** : Le malt concassé en mouture est additionné d'eau : ce mélange se nomme la « Maîsche » ou « brassin » (ce terme définit également le récipient où se trouve le mélange). Par filtration de la maîsche, on obtient le « moût ».

Une *B amylase* coupe les disaccharides de l'amidon en fin de chaîne : on obtient 59 % de maltose, 20 % de maltotriose, 14 % de glucose, 6 % de saccharose, 1 % de fructose (sucres rapides). La fermentation du maltose n'est possible qu'en présence de sa perméase et d'une maltase, elle-même réprimée par le glucose. L'utilisation du maltose ne débute que lorsque la concentration en glucose est inférieure à 0,1 %. Donc le maltose est utilisé après épuisement du glucose, fructose et saccharose.

Une *α amylase* coupe à l'intérieur de la chaîne et produit des dextrans (sucres lents, non fermentescibles). Les dextrans se retrouvent intacts dans la bière et contribuent au contenu calorique. Les protéines sont dégradées en acides aminés et peptides (les acides aminés non assimilés par la levure ainsi que les petits peptides contribuent à la saveur et à la formation de mousse).

Cette étape solubilise les composés hydrolysés par les enzymes pour former le moût fermentescible par les levures.

La teneur en glucides varie de 35 à 51 g/l selon les procédés de fabrication, dont plus de 85 % sous forme de dextrans.

***Cuisson et houblonnage du moût** : concentre le moût, stoppe l'action des enzymes, extrait la lupuline, les tanins, et les résines inhibant le développement des bactéries qui pourraient interférer avec les levures.

***Ensemencement du moût houblonné refroidi :** 20-25 millions de cellules de levure/ml de moût pratiquement stérile car porté à ébullition.

Pour initier une fermentation, les levures doivent être inoculées dans un moût à 20C, qu'il s'agisse d'une fermentation haute, basse ou spontanée. Si le moût est à plus de 40C, elles risquent d'être tuées ; par contre, avec une température trop basse, les levures s'endorment.

La quantité de levure doit être soigneusement ajustée : une quantité excessive accélère la fermentation mais influence souvent négativement la saveur de la bière. Ainsi, la brasserie n'utilise que la (les) souche(s) qu'elle repique. L'usage de L.S.A. en brasserie est exclusivement réservé aux productions familiales.

En fin de fermentation, elle est récoltée, tamisée et stockée à 0° c. Elle sera réutilisée 6 à 10 fois pour de nouvelles fermentations.

***Phase de croissance et fermentation primaire (ou « principale ») :** basse ou haute, d'environ 1 semaine. La population de levures se multiplie par 6 très rapidement.

***Floculence et refroidissement**

***Maturation (ou « fermentation secondaire », « garde », « affinage ») :** durant 2 à 8 semaines à C pour stopper le processus de fermentation, elle est nécessaire car la bière possède une forte saveur de levure. La « bière verte » obtenue après filtration est placée dans des cuves de garde adaptées. C'est une fermentation lente qui affine la bière, la sature en CO₂, et précipite les matières en suspension et protéines sensibles au froid.

***Filtration :** dépouille la bière des levures et la rend brillante.

***Stockage** sous pression à froid

***Pasteurisation**

***Conditionnement :** A l'embouteillage, il faut ajouter sucre et levure afin d'obtenir une bière effervescente. Alors que dans la fermentation principale, la levure travaillait uniquement pour produire de l'alcool (CO₂ s'échappe librement). En bouteille, cette même levure travaille mais cette fois principalement pour donner le CO₂ (le degré alcoolique augmente de moins de 0,5 % vol., la production d'alcool ayant lieu avant l'embouteillage, sinon, la bouteille exploserait). Bien encapsulée, la bouteille piège le CO₂ qui se dissout dans la bière et lui donne son effervescence.

Il est préférable d'ajouter du sucre de maïs (dextrose) car il n'apporte aucun faux goût alors que le sucre de canne semble donner un goût de cidre plutôt désagréable. La quantité à ajouter est fonction de la carbonation désirée.

1-4-CARACTERISTIQUES DES SOUCHES DE BRASSERIE

La fermentation d'un moût de brasserie fait intervenir un grand nombre de levures dont les critères de sélection peuvent parfois être améliorés par génie génétique.

*Fermentation rapide mais sans excès de croissance. Quoiqu'il en soit, le taux de croissance est rarement exponentiel en brasserie.

On recherche plutôt une intensité fermentaire (production de CO_2 de levure) élevée.

La mise au point de souches capables d'utiliser le maltose en présence de glucose permettrait d'augmenter la vitesse de fermentation.

*Capacité à fermenter les dextrines à plus de 3 unités glucose (maltotétraose, malt pentose). Cette propriété est utile pour la fabrication de bières légères.

*Activité glucanolytique : les levures hydrolysent les glucanes de la paroi du grain d'orge qui peuvent gêner la filtration. Le grain d'orge contient cette enzyme mais étant thermolabile, elle est détruite lors du séchage du malt.

*Résistance à l'éthanol et à une pression osmotique élevée pour la fermentation de moûts à haute densité.

*Profils aromatiques équilibrés et reproductibles : Cette évaluation est difficile puisque les substances aromatiques préexistent dans le houblon et puisque la production de composés aromatiques dépend également de la composition du milieu.

***Bonne stabilité génétique dans le temps.**

La souche est la clé de la réussite : connaissant ses besoins, il est possible d'orienter efficacement son choix et de la conserver en bon état. Par exemple, si on recherche une bière à l'arôme fin, on utilisera une levure floculant.

En outre, il faut la rajeunir irrégulièrement dans le moût car une dégénérescence sans cause expliquée peut avoir lieu si le moût comporte trop de cellules âgées, asphyxiées ou mortes.

2. LE VIN

2.1. HISTORIQUE

Le vin, tout comme la bière, est né quand l'homme commença à domestiquer les récoltes et qu'il les stocka. Dans le cas du raisin, en présence d'une aération bénéfique, les fermentations spontanées devaient permettre d'obtenir un produit, certes stimulant et revigorant, mais pas toujours très savoureux.

On retrouve des traces de l'existence du vin en Mésopotamie, en Arménie, en Égypte et en Grèce.

Longtemps inexplicée, la fermentation alcoolique du jus de raisin n'a été maîtrisée que très tard. C'est ainsi qu'au Moyen âge, les vins étaient additionnés de miel, d'épices ou Piments sans soute pour atténuer certains défauts de fermentation.

Les travaux de Pasteur et de l'Institut Carlsberg ont permis à la fin du XIX^{ème} siècle, de mettre au point des techniques d'isolement de cultures pures de levure, pour pallier aux résultats aléatoires des fermentations dites spontanées, c'est à dire sans addition de levure sélectionnée. Ces souches commercialisées portaient le nom de « cépage » (Moriot, Pinot, Fendant, Cabernet-Sauvignon..), de régions (Bordeaux, Alsace, Beaujolais ...), de communes (Barsac, Beaune, Asti...) voire même de domaines (Clos de Vougeot..) viticoles.

Ce n'est que vers 1955-1960 que l'on produit des levures de vinification en aérobiose. Dans Les années 1960, cette production industrielle a été prise en charge par les producteurs de **Levure de boulangerie**. Les produits commercialisés avaient l'aspect d'un gâteau comprimé, Humide, contenant 70 % d'eau qui se conservait mal. D'où la mise sur le marché, dès 1964, de Préparation de Los. A. De vinification après mise au point des procédés de séchage.

2.2. FABRICATION DU VIN

Quand les raisins arrivent à maturité, ils ont déjà accumulé du sucre sous forme de Glucose et de fructose ainsi que des acides. Cette maturité est évaluée selon la composition des grains, mais il faut également considérer le cépage, la région,

Notons que la fermentation malolactique, qui consiste en une réduction de l'acidité du moût par transformation de l'acide malique en acide lactique (moins acide) et CO_2 , est essentiellement bactérienne.

Malgré les progrès technologiques et la maîtrise de plus en plus grande de la fermentation par la sélection de souches et le contrôle des paramètres, la composition du vin est trop complexe et trop mal connue pour envisager la fermentation en continu. .

2.3. Les différents types de vinification

-en rouge

En « vinification rouge », le raisin entier est récupéré alors qu'en « vinification blanche », les éléments solides (pépins, rafle) sont retenus par pressurage.

-en blanc

Fermentation du seul jus de raisin, c'est-à-dire sans macération des parties solides de la grappe. On ne doit pas s'étonner de fabriquer du vin blanc à partir de raisins noirs car la plupart des pigments sont contenus dans la pellicule qui enveloppe la pulpe incolore. Quant aux vins rosés. Leur macération est très courte.

-en rosé

Intermédiaire entre le vin obtenu sans macération et le vin de macération. Ils sont obtenus soit par vinification en blanc de raisins rouges, soit par macération partielle, dite « par saignée ».

Ces derniers ont le nom de « vins de café, vins d'une nuit ».

2.4- Les 2 types de fermentation du vin ;

Le jus de raisin fait l'objet de plusieurs fermentations :

A• Fermentation alcoolique

Etape essentielle de toute vinification, elle permet de transformer les sucres en alcool, CO₂ et différents composés organoleptiques.

Elle peut durer de quelques jours à plusieurs mois selon les conditions du milieu, la région, le type de vin recherché, la température et la concentration en sucre.

L'ensemencement en culture pure est réalisé par addition de 1 à 5 millions de cellules de levure/ml. L'aération naturelle du moût lors de l'écoulement du jus dans la cave permet l'obtention d'une population levurienne de 100 à 150 000 000 cellules/ml en 48 h à 20°C.

La fermentation alcoolique est un processus complexe qui doit être surveillé constamment par la teneur en sucres fermentescibles et la température (qui doit rester inférieure à 30°C sinon la fermentation s'arrête ; les vins de grande qualité sont vinifiés entre 21 et 24°C).

Au terme de cette première fermentation, le vin a acquis sa teneur finale en alcool. Le titre en alcool qui dépend notamment de la richesse initiale en sucre du raisin, se situe généralement entre 9 et 14 %. Au-delà, la croissance des levures est inhibée. Par conséquent, les vins dont le titre est supérieur ont nécessairement été enrichis en alcool ou ont été chaptalisés, c'est à dire que l'on a ajouté du saccharose dans le jus de raisin en fermentation, sachant que le rendement alcoolique d'une levure dans des conditions habituelles de vinification se situe aux environs de 1° d'alcool pour 17 g de sucre fermenté.

90 % des sucres seront utilisés d'abord par oxydation, ensuite par fermentation, avec production de petites quantités de glycérol, 2-3 butane diol, acétone, éthanol et divers composés comme les acides acétique, lactique et pyruvique.

Les 10 % restants sont utilisés dans la synthèse de divers produits secondaires dont les composés organoleptiques : alcools supérieurs, esters, acides aminés, peptides, polysides, Esters lourds...

La plupart des difficultés sont dues à des fermentations lentes ou des fins de fermentation difficiles liées à de fortes concentrations initiales de sucre et surtout à de fortes concentrations finales en éthanol.

En outre, la nécessité de régulation de la température des cuves de fermentation n'est plus à démontrer puisque la fermentation alcoolique, exothermique, se bloque à 35°C.

En cas d'arrêt de la fermentation, on sépare le vin du reste du marc qui peut avoir été contaminé par des bactéries lactiques ; une aération et un léger sulfitage suffisent généralement à faire repartir la fermentation. Sinon, un réensemencement avec des L.S.A s'impose.

B• Fermentation malolactique :

Elle n'est pas recherchée systématiquement et est en très grande majorité assurée par des bactéries lactiques anaérobies. Elle a pour fonction de transformer l'acide malique (diacide) en acide lactique (monoacide) et CO₂ ce qui permet d'obtenir des vins plus souples, moins acides, et même d'éliminer l'acide malique biologiquement instable qui confère au vin une « verdeur » indésirable. Elle est très recherchée sur les vins rouges de Bordeaux et Bourgogne et sur les Champagnes mais non désirée pour les vins blancs de la Loire.

Différentes espèces de levures sont capables de dégrader l'acide malique : c'est le cas de *Schizosaccharomyces*. Malheureusement, son association avec *Saccharomyces cerevisiae* permet pas l'obtention de vins de qualités organoleptiques satisfaisantes.

3. LE CHAMPAGNE

3.1. PREPARATION

L'élaboration du Champagne est caractérisée par l'aptitude des souches de *S.cerevisiae* à réaliser une seconde fermentation à 10- 12°C pour amener le liquide de 11,5° d'alcool à 12,5-12,8°. Ces souches doivent supporter le remuage qui consiste à faire glisser le dépôt dans le col de la bouteille. Elles seront donc choisies selon leur capacité d'agglomération. Le champagne est préparé à partir d'un vin de base auquel on ajoute du sucre de canne ou de betterave, afin de réaliser sous pression, en cuve ou bouteille (méthode champenoise), un vin mousseux.

La boisson obtenue a été le siège de 3 fermentations : alcoolique, malolactique et enfin, une dernière fermentation alcoolique, communément appelée « champagnisation » ou « prise de mousse ».

Selon la région, il existe 4 méthodes :

• Méthode rurale : naturelle

La première fermentation alcoolique est stoppée par le froid ou par filtration. Le vin est alors mis en bouteille et la prise de mousse s'opère à partir des sucres résiduels. On procède ensuite éventuellement à l'élimination du dépôt de levures par remuage et dégorgement. C'est la

méthode la plus utilisée pour l'élaboration de la clairette de Die mais l'emploi de ce procédé va décroissant car il est de maîtrise difficile.

• Méthode champenoise

Née en Champagne, elle est la seule employée pour l'élaboration des vins ayant l'appellation « Champagne », bien qu'elle ne constitue qu'une des caractéristiques de ce produit. Elle est également utilisée pour l'élaboration de certains mousseux. Le vin de base, additionné de sucre et de levures, est immédiatement mis en bouteilles où s'effectue la seconde fermentation. Après un séjour plus ou moins long sur lie, on procède au remuage des bouteilles et au dégorgement pour éliminer le dépôt de levures et rendre le vin parfaitement limpide. Le vin est commercialisé dans la même bouteille qui a servi à la champagnisation. :

• Méthode de transfert

La seconde fermentation a toujours lieu en bouteille mais celle opération terminée, le vin est transféré dans une cuve sous contre - pression filtré stérilement puis remis en bouteille.

• Méthode cuve close

C'est la technologie la plus ancienne mais la plus avancée. La seconde fermentation est effectuée dans des cuves résistantes à la pression puis transféré par filtration dans une autre cuve avant leur mise en bouteilles. On exploite ce procédé pour l'élaboration de nombreux vins mousseux hors appellation Champagne.

Le principal problème de cette prise de mousse réside dans la difficulté à initier une nouvelle fermentation sur un milieu riche en alcool (10-11,5) et appauvri en substances nutritives par les opérations précédentes (fermentations alcoolique et malolactique, traitement des vins...). Par ailleurs, le milieu est défavorable :

- pH : 3,2
- température de 10-15°C : ne permet pas d'optimiser les qualités organoleptiques
- SO_2 libre (10-20 mg/l) limitant la croissance des levures nécessaires à cette nouvelle fermentation. (HENCKE, 2000)

II. Panification

1. Fabrication de pâtes levées et de pain.

Le pain est fabriqué à partir de farine, de levure ou levain, de sel et d'eau. C'est l'activité chimique des levures qui provoque le dégagement de bulles de gaz carbonique et fait lever la pâte à pain. Les bactéries lactiques (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*) acidifient le pain.

Ainsi, la qualité du pain, tel que les propriétés organoleptiques et le dégagement de CO₂ pendant le façonnage, dépend de l'activité fermentaire de la levure. Basé sur cette problématique, plusieurs types de levures et levains sont commercialisés pour faciliter et optimiser la fabrication du pain. C'est un point important à considérer pour réaliser des avantages concurrentiels. Dans le domaine des levures et de la fermentation, l'industrie dont le leader mondial est Les affres. Offre sur le marché une large gamme de levures pour les boulangers : levure pressée, levure émiettée, levure liquide, levure sèche active, levure sèche instantanée, levure à humidité intermédiaire surgelée. En revanche, des procédés complexes doivent être parfaitement maîtrisés pour produire ces types de levure. De solides connaissances sur le comportement des levures, par exemple la compréhension de la résistance des levures pendant la déshydratation pour la production des levures sèches actives, sont requises.

III. Les arômes :

1. Définition :

Les arômes sont des préparation concentrées de substances aromatique destinée à être ajoutées à des solution au des denrées alimentaire afin de leur donner renforcer une odeur et / ou un gout (Moll ,1990) ils se traduisant généralement par la présence , au sein d'une matrice complexe , de nombreux composés volatils de diverses propriété physico – chimique avec impacts sensoriels différents , ils sont classes selon structures chimique et répartis en 11 familles : alcools , aldéhydes , cétones ,acides , esters , lactones , composés , soufrés , phénols, hétérocycle aromatique hydrocarbures terpéniques et éther – oxydes (Omelianki , 1923)

2. Les différents types d'arômes :

A / Les arômes naturels :

se compose naturels aromatisants peuvent être des préparation dont la composition est plus au moins bien déterminée ou des substances chimiquement définies (Mull et Al, 1990) ils ont obtenus soit à partir de matières végétales ou animales par extraction (procèdes physique), soit par biotechnologies procèdes (enzymatiques au microbiologique)

B / Les arômes de synthèse :

Les arômes de synthèse qui sont produit par voie chimique à partir de différentes sources, se divisent en 2 groupes :

Les **arômes** ((nature –identiques)) et ((les arômes artificiels))

B /1. Arômes identiques aux naturels :

Ces arômes possèdent une constitution identique à celle d'une substance présente dans les produits naturels, mais ils sont obtenus par synthèse chimique. Contrairement aux naturels, ces arômes ont une grande pureté qui permet de présenter des caractéristiques organoleptiques bien définies, uniques et plus régulières en résistant mieux aux températures élevées. De plus, cet état de pureté leur assure un pouvoir aromatisant remarquable avec un prix très compétitif par rapport aux substances naturelles, raison pour laquelle ils sont très utilisés et en très faibles quantités (Mayer, 1990).

B / 2. Arôme artificiels :

Certains **arômes**, obtenus par synthèse chimique, n'ont jamais été identifiés dans la nature (Etievant, 1991)

C / Les arômes de transformation :

Ces **arômes** issus de la réaction de Maillard résultent d'un mélange de sucres et de produits azotés afin de produire industriellement.

Des notes ((viande)), pouletces derniers sont utilisés par les industries agroalimentaires dans la préparation des soupes, des sauces (Fiess, 1995)

D / Les arômes de fumée :

Sont obtenus par combustion de bois tels que le hêtre, Bou l'eaules fumées ainsi obtenues sont récupérées, condensées et utilisées dans la préparation des sauces des chips(Fiess, 1995).

E / Les arômes issus des biotechnologies :

Les méthodes classiques de production d'arôme naturel ne s'avèrent plus performantes et satisfaisantes face à la demande croissante des industries alimentaires, l'extraction à partir de matières premières naturelles présente de nombreux inconvénients.

- La production agricole est saisonnière et limitée
- Leur qualité varie en fonction de facteurs incontrôlables
- Le prix revient est élevé.

3/ les levures productrices d'arômes :

Les levures et notamment *Saccharomyces cerevisia* utilisées en alimentaire depuis des temps très anciens participent à l'améliorations de gout et delà flaveur de nombreux produit comme la bière ,le vin et le pain (**Lerch et Schilling 1992**) l'augmentation de ces production d'arôme peut être réalisée par l'améliorations des souches de levures , en effet la sélection de mutants sur milieu enrichi en analogue d'acides aminés , conduit à la sur production d'alcool et d'esters dans la bière (**Lee et Al 1995**) de plus des recombinaisons génétique réalisée sur des levures de saké permettant d'obtenir de meilleurs production d'alcool supérieurs, les levures présentant des avantage considérables par rapport aux champignons , notamment dans leur facilite de mise en œuvre et leur connaissance biologique plus approfondi (**Gros et Al ,1989**) .

IV. Production d'éthanol :

L'éthanol est un produit chimique industriel important pouvant avoir plusieurs destinées en industrie chimique, pharmaceutique, cosmétique,, etc.

Aujourd'hui, il possédé de nouveaux potentiels en tant que biocarburant.

Le bioéthanol grâce à ses propriétés physico-chimiques compatibles avec l'essence, représente une alternative très prometteuse aux énergies fossiles, capacité fermentaire, les levures produisent cet alcool à partir de sucres qui peuvent être obtenus soit à partir de biomasse sucrée (canne à sucre, betterave) ou amylacée (maïs, pomme de terre) soit à partir de biomasse lignocellulosique (herbe, bois) Elles sont générées par les activités agricoles et agro-industrielles c'est le cas par exemple de la palmeraie algérienne (**Kaidi et Al ,2001**)

Chapitre 4

la production des dattes

I. Historique

Le palmier dattier est l'un des arbres fruitiers les plus anciennement cultivés. Les documents les plus anciens en Mésopotamie (Irak actuellement) montrent que sa culture se pratique depuis 3500 ans avant J.C. A la même époque, les dattiers étaient cultivés en Irak occidental, à travers l'Arabie et jusqu'en l'Afrique du Nord. Ce n'est qu'au milieu du XIXème siècle que les plantations furent établies dans les vallées chaudes de Californie et dans l'Arizona méridional. Au cours des siècles, au Maghreb, le palmier a fait l'objet de différentes plantations réparties dans des lieux disposant de quantités d'eau relativement importantes. Le palmier dattier permet une pérennité de la vie dans les régions désertiques. Ses fruits sont un excellent aliment grâce à leur effet tonique et légèrement laxatif ([Munier, 1973](#)).

II. Le secteur dattier

1. Le secteur dattier dans le monde

La production mondiale des dattes s'élève à environ 7,5 millions de tonnes en 2012, produites par plus d'une trentaine de pays. Cela place la datte au 5ème rang des fruits les plus produits dans les régions arides et semi-arides, après les agrumes, la mangue, la banane et l'ananas. On en produit dans plus de 30 pays, les plus importants étant l'Egypte, l'Iran, l'Arabie saoudite, les Emiraties arabes unies, l'Irak, le Pakistan et l'Algérie (Figure 4). L'Europe est surtout approvisionnée par l'Afrique du Nord, principalement la Tunisie et l'Algérie.



Figure 4. Production mondiale des dattes (FAOSTAT, 2014).

La production des dattes en 2013 dans le monde venait principalement de l’Asie (64%) et l’Afrique (35,5%).

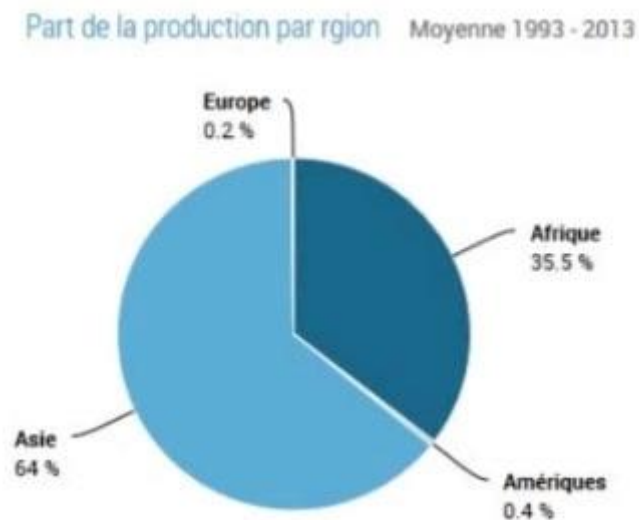


Figure 5. Répartition de production des dattes dans le monde.

2. Production dans l’Algérie

Selon les statistiques les plus récentes (2015) du Ministère de l’Agriculture et du développement Rural, le palmier dattier occupe en Algérie une superficie évaluée à 167.000 hectares pour un nombre de palmiers estimé à plus de 18,6 millions d’unités et une production de dattes, toutes variétés confondues, de près de 99 mille tonnes.

Les régions phoenicicoles se situent généralement au sud de l'atlas saharien et couvrent 17 wilayas (en réalité 16 wilayas car la wilaya de Msila a perdu son potentiel phoenicicole). La wilaya de Biskra et la première région phoenicicole avec 27,4 % de la superficie totale, 23,1 % du nombre total de palmiers dattiers et 41,2 % de la production nationale de dattes. Elle est suivie par la wilaya d'El Oued avec respectivement 22 %, 22,4 % et 25%. Ces deux wilayas totalisent à elles seules plus des deux tiers (2/3) de la production nationale de dattes. (Sidabtech ,2017).

La répartition par wilaya se présente comme suit :

Tableau 2 : La production algérienne de dattes en tonnes. Mars 2017. (Sidabtech, 2017).

Wilaya	Production (quintal)
Biskra	4.077.900
El Oued	2.474.000
Ouargla	1.296.300
Adrar	910.300
Ghardaïa	565.000
Béchar	300.500
Tamanrasset	109.400
Khenchela	68.200
Tébessa	20.500
Laghouat	16.200
Illizi	15.600
Batna	14.000
El Bayadh	10.300
Naama	10.200
Tindouf	8.400
Djelfa	6.800
Total :	9.903.600

III. Description botanique :

Au niveau de la taxonomie, le palmier dattier est une plante de grande taille, monocotylédone, spadiceflore appartenant à la famille des palmacée, Sous famille des coryphoideae, le genre Phoenix et l'espèce dactylifera (Lasram, et Al,2002).

Comme le montre la figure 6, le palmier dattier est constitué de :

- Le troc : peut atteindre, pour certaines variétés 25 m de longueur. Ce stipe est en général cylindrique uniforme pour certains cultivars, relativement tronconique pour d'autres.
- Les palmes : sont des feuilles composées pennées plus au moins longues et plus ou moins flexibles en fonction des cultivars et des conditions de culture.
- Le système racinaire : est de type fasciculé souvent très puissant, repartit en 4 zones.
- L'inflorescence : le palmier est une plante dioïque, les sexes sont donc séparés en palmier femelle donnant les fruits et palmier male dit pollinisateur produisant du pollen.
- Le régime : les fruits sont plus ou moins insérés sur les épillets qui sont groupés pour former le régime.
- Le fruit : la datte est une baie ayant une seule graine communément appelée noyau. Elle comporte une enveloppe fine cellulosique, l'épicarpe ou peau, un mésocarpe plus ou moins charnu et de consistance variable, présente une zone périphérique de couleur plus soutenue et de texture compacte, et une zone interne de teinte plus claire et de texture fibreuse, l'endocarpe, réduit à une membrane parcheminée entourant la graine ou noyau (Espoard, 2002).

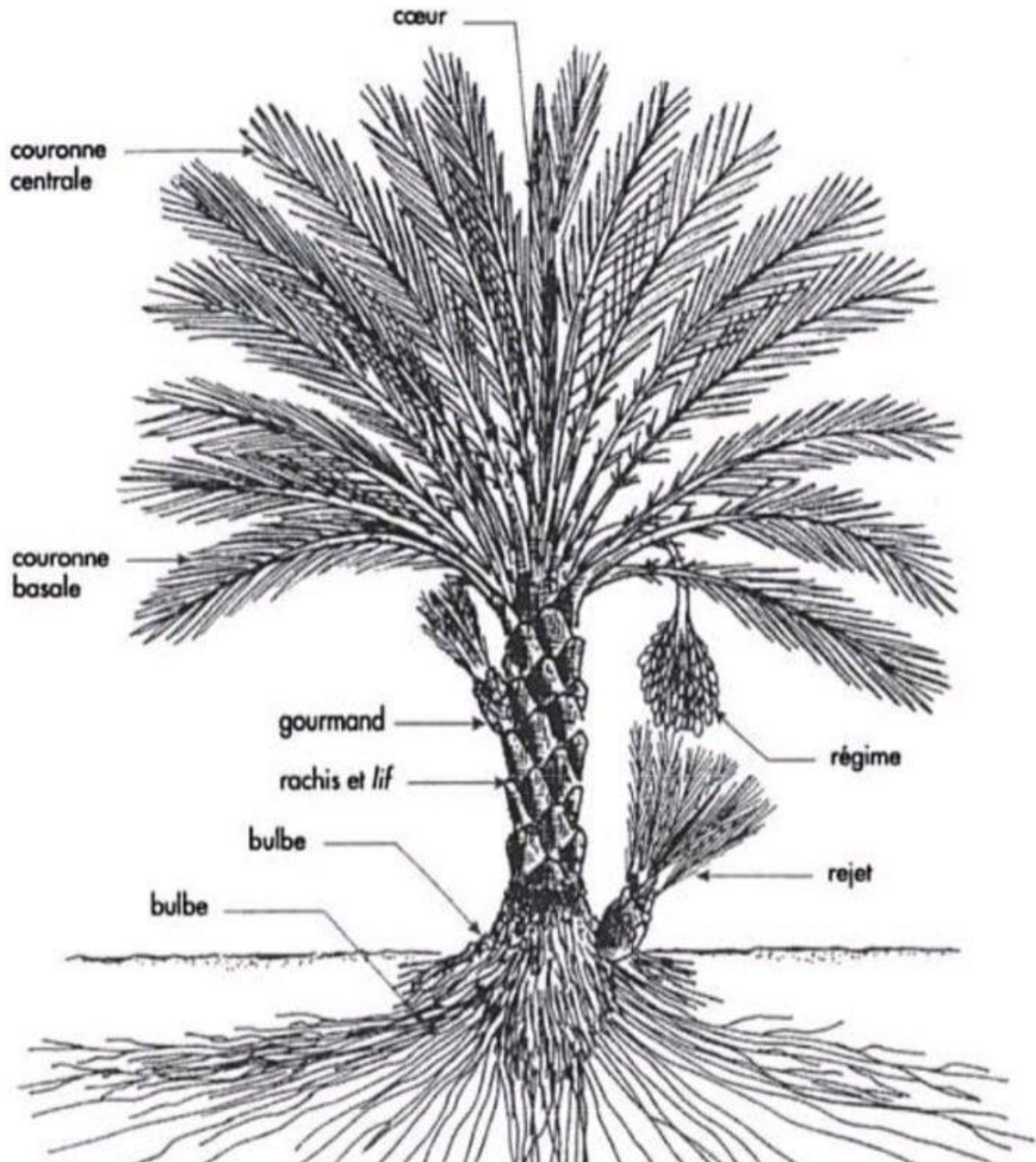


Figure 6 : Coupe schématique d'un palmier dattier (Munier, 1973)

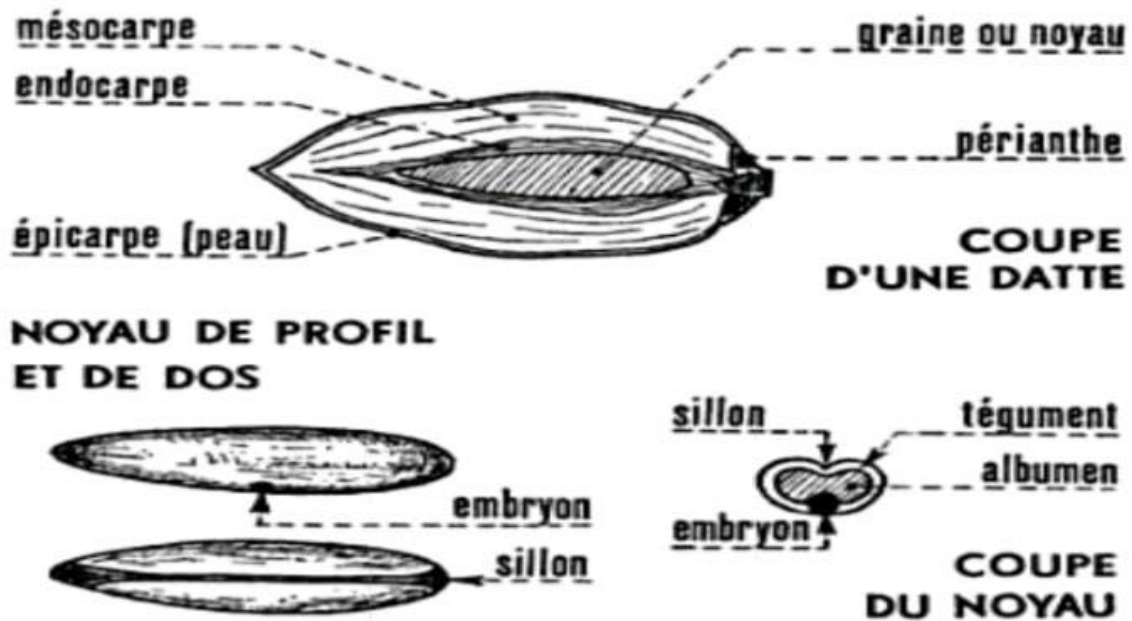


Figure I .3 : Schéma datte et son noyau [13]

IV. La datte

1. Description de la datte

La datte est le fruit du palmier dattier, généralement de forme allongée, ou arrondie. Elle est composée d'un noyau ayant une consistance dure, entouré de chair. La partie comestible de la datte, dite chair ou pulpe, est constituée de :

- Un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau.
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et est de couleur soutenue.
- Un endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau (Espiard, 2002)

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur coller va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus ou moins foncées (Salme, 2015)

2. Formation et maturation de la datte

L'évolution des dattes chez le palmier dattier jusqu'à maturité passe par cinq stades (Fig.3). La maturité de la datte est un processus complexe, elle se caractérise par la dégradation de la chlorophylle, la synthèse des caroténoïdes et la conversion de l'amidon en sucres simples [14] qui se manifestent par le changement de la couleur, de la texture, de la flaveur, du goût et des caractéristiques physico-chimiques. Le Tableau I illustre les nomenclatures des différents stades d'évolution adaptées dans quelques pays producteurs de dattes.

Tableau 3 : Stades d'évolution et appellation de datte (Amirat et Al, 2017)

Pays	Stades de développement de la datte				
	Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4	
Sahara Algérien	Loulou	Kh'lal	Bser	MretbaouMartouba	Tamar
Irak	Hababouk	Kimiri	Khalal	Routab	Tamar
Libye	-	Gamag	Bissir	Routab	Tamar
Mauritanie	Zei	Tefejena	Enguei	Blah	Tamar

- ✓ Stade I (Loulou) : c'est le stade qui suit la pollinisation et qui dure environ cinq (05) semaines (AL-HOOTI S et Al , 1997).
- ✓ Stade II (Khalal) : Le fruit a une couleur verte. Au cours de ce stade un grossissement rapide du fruit est observé en raison de l'accumulation des hydrates de carbone et de l'humidité l'acidité est assez élevée. A la fin de ce stade, la couleur commence à devenir jaune ou rouge, selon les cultivars
- ✓ Stade III (Bser) la couleur de la datte vire au jaune ou au brun. Il est caractérisé par rapport au stade khalal par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, une diminution de la teneur en eau et de l'acidité (Gourchala , 2015)
- ✓ Stade IV (Martouba) ce stade dure deux à trois semaines. Il se caractérise par un début de ramollissement du fruit en raison d'une augmentation des activités enzymatiques des pectinases et des polygalacturonases et une perte en eau. A cette étape les protéines et les cendres diminuent respectivement jusqu' à 2,6 et 2,6%, les tanins se fixent sous l'épicarpe du fruit.

- ✓ Stade V (Tamar) la phase ultime de maturation, au cours de laquelle le fruit perd une quantité importante d'eau ce qui donne un rapport sucre/eau élevé (Djerbi, 1994). Les fruits ont des niveaux des sucres beaucoup plus élevés, un goût plus doux, une plus faible quantité d'eau et de tanins. La couleur du fruit devient de plus en plus foncée, surtout chez les dattes molles (Assiirey, 2015)



Figure 7 : Stades de maturation de la datte (Ghazi, 2005).

3. Composition biochimique de la datte

A/. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe"

La datte est constituée de deux parties, une qui est comestible, représentée par la pulpe (mésocarpe) ; et l'autre, non comestible, qui est le noyau, ayant une consistance dure. Ce dernier représente 10 à 30% du poids de la datte, il est constitué d'un albumen protégé par une enveloppe cellulosique. La datte se compose essentiellement d'eau, de sucres réducteurs « glucose et fructose » et de sucres non réducteurs, « saccharose ». Les constituants non glucidiques représentent les protides, les lipides, la cellulose, les cendres (sels minéraux), les vitamines et les enzymes.

✓ Eau

La teneur en eau est en fonction des variétés, stade de maturation et du climat (Estanove, 1990.), l'humidité décroît des stades verts aux stades murs. D'une manière générale, la

teneur moyenne en eau des dattes varie de 10 à 40% du poids frais, ceci la classe dans les aliments à humidité intermédiaire (Acourene et Al, 1997).

✓ Sucres

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose (Favier et Al ;1995). (Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion, tels que : le galactose, la xylose et le sorbitol (Siboukeur , 1997). La teneur en sucres totaux est très variable et dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 60 et 80 % du poids de la pulpe fraîche (Abou-Zeid et Al, 1991)

✓ Protéines et acides aminés

La pulpe de la datte ne contient qu'une faible quantité de protéines. Le taux diffère selon les variétés et surtout selon le stade de maturité, il est en général de l'ordre de 1.75% du poids de la pulpe. Aussi, il a été montré que le pourcentage de protéines présent dans les noyaux des dattes est plus important que celui de la pulpe (Djoudi; 2013).

✓ Matières grasses

La pulpe de la datte contient peu de matière grasse. Celle-ci est concentrée dans la peau (2.5-7.5%MS) et joue un rôle plus physiologique que nutritionnelle. Ce rôle se traduit par la protection du fruit (Al-Shahib et Al, 2002), a indiqué la présence 6 acides gras dans la datte Deglet-Nour.

✓ Les fibres

La datte est riche en fibres, elle en apporte 8,1 à 12,7 % du poids sec (Albert, 1998) Selon (Benchabane ,1996), les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Du fait de leur pouvoir hydrophile, les fibres facilitent le transit intestinal et exercent un rôle préventif des cancers colorectaux, des appendicites, de la diverticulose, des varices et des hémorroïdes. Elles ont également un effet hypocholestérolémiant (Favier et Al, 1995)

✓ Éléments minéraux

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Ziban faite par Acourene et al. (2001)], montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec.

La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux, essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium. Les travaux de (Siboukeur, 1997) ont montré que la composition minérale de quelques cultivars de dattes molles algériennes.

✓ Vitamines

En général, la datte ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la datte se caractérise par des teneurs appréciables de vitamine de groupe B. Le tableau 4 donne les ordres de grandeur de chaque vitamine.

✓ Pigments Les principaux pigments identifiés dans les dattes sont :

Caroténoïdes, anthocyanines, flavones, flaconal, lycopènes, flavoxanthine et lutéine dans certaines variétés égyptiennes (Alais et Al, 1997)

✓ Polyphénols

Tanins : Ils constituent plus de 3% du poids de la datte ; l'un des principaux effets de ces derniers intervient lors du processus de maturation par la variation de leur solubilité (texture) : ils passent de la forme soluble (astringente) à la forme insoluble (insipide), résultant probablement de leur combinaison avec les protéines (variation du goût).

Les tanins jouent également un rôle dans le brunissement non enzymatique (Cheftel et Al, 1977). C'est pourquoi, des traitements thermiques sont réalisés afin de retarder le phénomène de brunissement lors du stockage des dattes.

Flavones : Ces composés sont essentiellement impliqués dans le phénomène de brunissement enzymatique qui est responsable de la coloration de la datte au cours de la maturation (Munier, 1973).

✓ Les acides organiques

Le jus de datte est légèrement acide, rapporte que les dattes mûres se caractérisent par une acidité moins importante avec un pH de 5, mais il ne se prononce pas formellement sur le rôle de l'acidité dans les dattes. Il avance cependant l'idée qu'une forte acidité est associée à une mauvaise qualité. (Youssef et Al, 1992).

✓ Les composés volatils (Flaveur)

Les composés volatils sont responsables de l'arôme spécifique. Ces composés aromatiques spécifiques aux dattes sont peu connus et n'ont pas fait l'objet de beaucoup de recherches, 38 composés volatils ont été identifiés (Estanove., 1990)

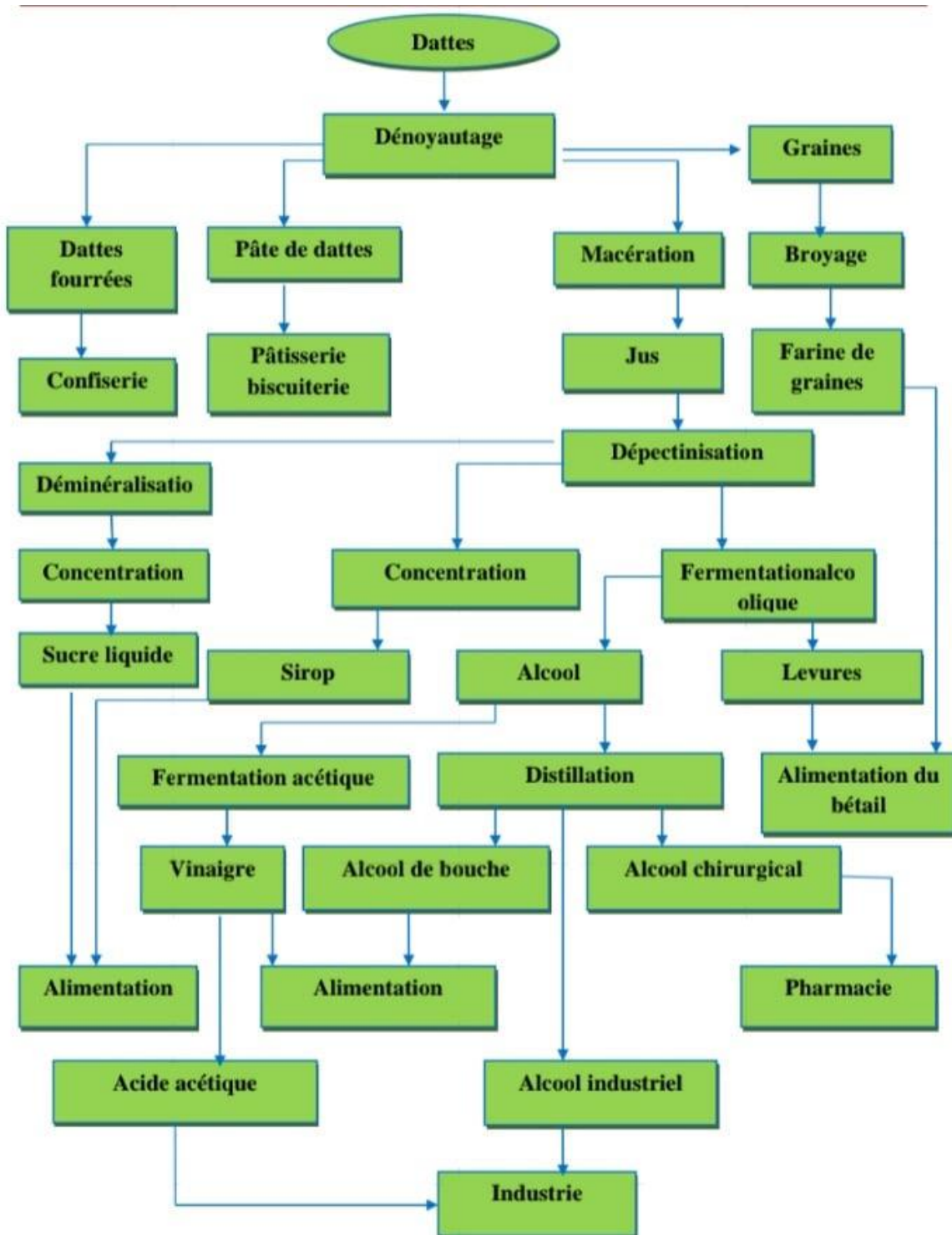


Figure 8: Techniques de transformation et de valorisation des dattes

Partie Expérimentale

Matérielle Et Méthode

I. Objectif et intérêt de l'étude :

Les levures présentes naturellement dans les dattes. Elles sont responsables de la fermentation spontanée du jus de datte et participent à l'élaboration de nombreux produits alimentaires.

Notre étude consiste à isoler, purifier, caractériser macroscopiquement et identifier les espèces de levures trouvées dans le jus des dattes par précieuse levure *saccharomyces cerevisiae*.

II. Matériels végétal :

Différents isolats de levures *S.cerevisiae* ont été obtenus à partir de jus issus d'une variété des dattes algériennes. Ont prendre trois types différents des dattes.

Tableau 04 : Provenance des échantillons biologiques utilisés pour l'isolement des levures *S.cerevisiae*.

Echantillons	Nom	Texture	emballage	La source
Type 1	Dattes algériennes	Sec	En carton	Oued soufe
Type 2	Alwaha	Mellifère	En carton	Biskra
Type 3	Deglate Nour	Très Mellifère	Carton+ plastique	Biskra

III. **. Matériels non biologiques :** Becher, Erlenmeyer, Les tubes à essai, Flacons, Boites de Pétrie..

***Produits : milieu PDA et YPG**

IV. **. Isolement de levure *Saccharomyces cerevisiae* :**

Nous avons choisi dans notre étude le jus des dattes suivants certains critères qui sont :

-La disponibilité ;

-La composition (Richesse en sucre)

-Faible valeur marchande.

-un milieu favorable pour la croissance et le développement des levures.

4.1. Préparation de l'extrait de datte :

Pour obtenir un extrait de datte, nous devons passer par les étapes suivantes :

- * Laver la pulpe fraîche de la datte obtenue à l'eau ;
- * Eliminer les loges capillaires et les noyaux des dattes ;
- * Couper la pulpe en petit morceau ;
- * Dans un bêcher ajouter une quantité d'eau distillée est égale à **5 fois** le poids de la pulpe fraîche préparée ;
- * Porter le mélange au Bain–marie à **70 - 75°C** pendant **1** heure, avec agitation de temps en temps ;
- * Après refroidissement, le mélange obtenu est ensuite filtré ; la première filtration à l'aide d'un tissu (la gaze), la deuxième filtration sur papier filtre sous vide, ou sur sable ;
- * Ensuite on peut être effectués les analyses sur l'extrait obtenu.
- * conserver dans des flacons.

Remarque : Nous avons préparé le jus de datte pour les trois types mentionnés ci-dessus de la même manière.

-Et nous avons laissé le jus des dattes dans les flacons pendant 2 jours à températures ambiantes.

4.2. Préparation des dilutions :

-Marques les tubes de diluants ($10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$)

- Prélever aseptiquement 1ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1ml.

-Transférer aseptiquement le 1 ml dans le premier tube 10-1. La pipette ne devant pas pénétrer dans les 9ml de diluant.

-A l'aide d'une 2ème pipette stérile prélever le 1ml de tube 10-1 et ajoutes dans le tubes 10-2

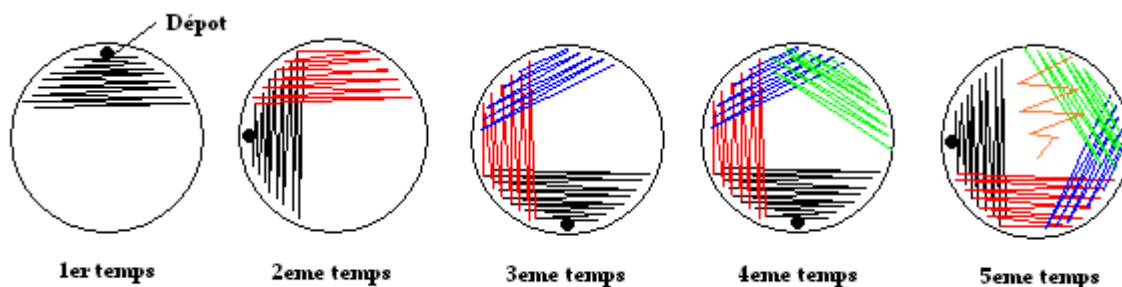
-Faire le même pour le tube 10-3

4.3. Isolement sur milieu solide- PDA (technique des quadrants)

C'est le type de base des ensemencements. En effet, il permet s'il est bien réalisé, d'obtenir *des colonies isolées*, donc d'obtenir des *cultures pures* d'une espèce. Le principe de ce type d'ensemencement est d'épuiser un dépôt initial en faisant des étalements successifs dans différentes directions (d'où le nom de la technique : épuisement par la méthode des quadrants). Deux techniques sont couramment appliquées : 4 ou 5 étalements successifs

Description de la technique en 5 étalements :

- Marques les boîtes de milieu gélosé ($10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$)
- Prélever la suspension de levure à l'aide d'une anse ou d'une pipette Pasteur
- Dépôt initial de la souche près d'un bord d'une boîte de gélose PDA.
- Etalement de ce dépôt en réalisant des stries serrées sur environ 1/3 de la boîte
- Stérilisation de l'instrument d'étalement
- Etalement d'une partie des stries précédentes, après avoir fait tourner la boîte d'environ 50°
- Répétition des deux étapes précédentes 2 fois.
- Faire un Z final vers le centre de la glose.
- Incube la boîte de pétris dans l'étuve pendant 3 jours à 25°C



4.5. Identification de levure *Saccharomyces cerevisiae* :

1. Etude des caractères cultureux :

Nous avons ensemencement la levure *S.cerevisiae* en milieu YPG par la même méthode.

2. Etude des caractères morphologiques :

Cette étude nous permet à définir la forme ; l'arrangement et le mode de division ; ainsi que leur taille.

Donc on réalise un examen microscopique à l'objectif *40 ; cette observation microscopique se effectuer à l'aide d'une coloration au bleu de méthylène.

A/La coloration au bleu de méthylène :

1. Principe

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les cellules qui sont en général mieux conservées qu'avec la coloration de Gram. Elle permet de renseigner sur :

- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

2. Technique :

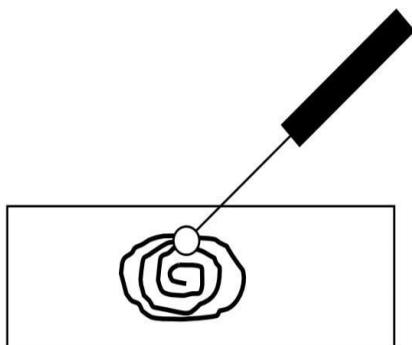
- Réaliser un frotti et le fixer.
- Recouvrir la lame de bleu de méthylène phénique 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre deux feuilles de papier joseph.
- Observer à l'objectif $\times 100$ à l'immersion dans l'huile à pleine lumière.

B/ REALISATION D'UN FROTTIS

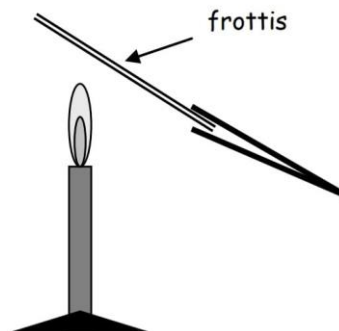
1. Principe

Il permet de fixer le micro-organisme étudié sur une lame afin de les colorer. Sur un frottis, les bactéries sont donc mortes.

2. Technique



1. Réalisation du frottis



2. Fixation du frottis

- **Déposer sur une lame propre à l'aide d'un instrument stérile :**

- soit une goutte de milieu de culture liquide
 - soit une goutte d'une suspension réalisée en tube et en eau stérile à partir d'une colonie isolée
 - soit une goutte d'eau stérile dans laquelle on dilacère soigneusement une parcelle de colonie de façon à obtenir une suspension homogène
- **Réaliser le frottis** en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'instrument un
 - mouvement circulaire, dit « en coquille d'escargot », de façon à obtenir un étalement mince et homogène de 1 à 2 cm².

L'étendue du frottis est fonction de la richesse en germes de la suspension de départ. On veillera à ne pas étaler sur une trop grande surface les prélèvements normalement stériles et souvent pauvres en germes.

- **Stériliser l'instrument**

- **Sécher et fixer le frottis** au-dessus de la flamme du bec Bunsen (ou au-dessus du bec électrique) en mettant la face sans bactéries du côté de la flamme et **SANS TROP LE CHAUFFER**

La technique la plus sûre consiste à passer dans la flamme le frottis 2 à 3 fois une demi-seconde, face sans bactéries vers la flamme (ou au-dessus du bec électrique)

- **Etape facultative :** fixer le frottis à l'éthanol en le recouvrant durant 5min avec de l'éthanol.

Remarque : le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination

3. Etude des caractères biochimique et physiologique :

Remarque : En raison de la pandémie de corona et du manque de temps, nous n'avons pas pu mettre en œuvre cette étude.

Résultats Et Discussion

Notre travail est basé sur l'identification des levures purifiées à partir de dattes variées est le type de dates pour obtenir des souches prêtes à l'emploi dans divers domaines : agriculture, médicaments, etc.

I. Etudes de caractéristiques culturelles des souches isolées des dattes :

1-1. Etude macroscopique :

L'étude macroscopique effectuée sur les colonies de souches préalablement isolées nous a permis de faire une présélection basée essentiellement sur leurs caractéristiques morphologiques telles que l'aspect, la forme et la couleur, et auxquelles nous avons rajouté l'odeur, un paramètre aussi important dans la pré-identification des levures.

I-2- Etude microscopique :

L'observation au microscope des lames effectuée sur les colonies des souches nous a permis de définir les formes : sphériques, ovoïdes, allongées, cylindriques et le mode de reproduction : mono polaire, bipolaires par bourgeonnement.

I-3-Aptitude de la filamentisation :

La recherche systématique de l'aptitude à la filamentisation, est observée à partir d'une culture sur lame microscopique (objectifs X 40), pour noter la nature de mycélium (pseudo mycélium ou vrai mycélium), son abondance et sa ramification

Tableau n°05 : Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche t 01. Dans le milieu PDA


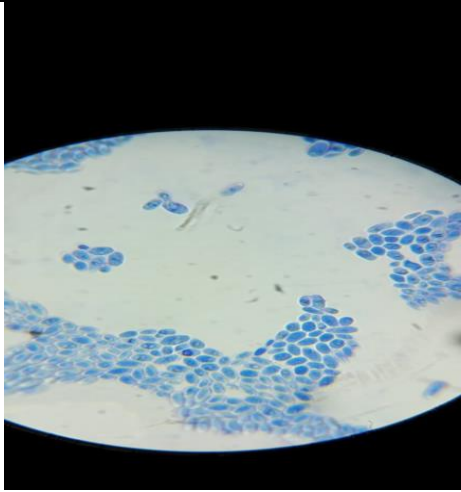
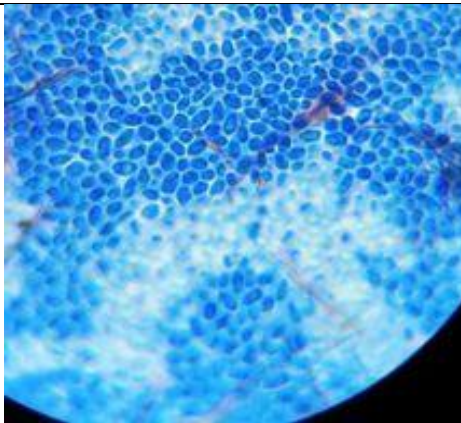
<p>Observation macroscopique</p>		<p>*Des colonies crémeuses de couleur blanche opaque, de taille moyenne et de surface lisse de forme ovoïde et ont une odeur de levure de boulangerie.</p>
<p>Observation microscopique</p>		<p>*La forme végétative est ovale grande</p>
<p>Aptitude de la filamentation</p>		<p>*Présence de mycélium</p>

Tableau n°06 : Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche t 02. Dans le milieu PDA

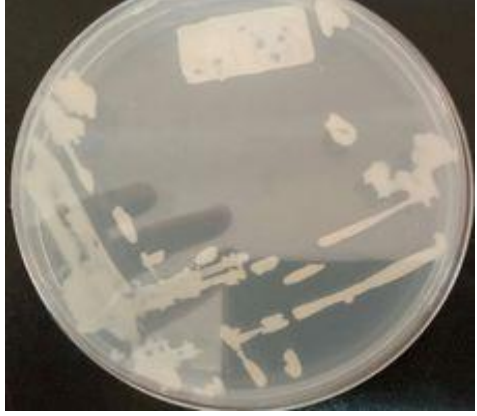
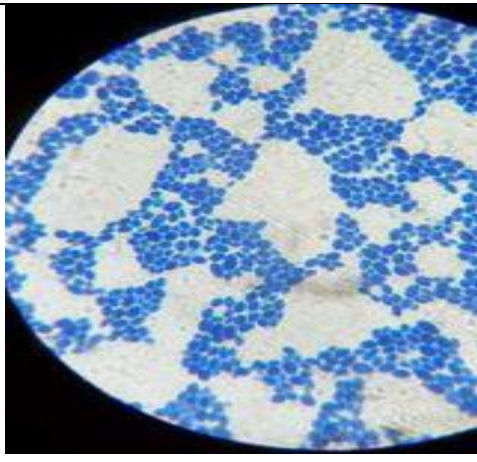
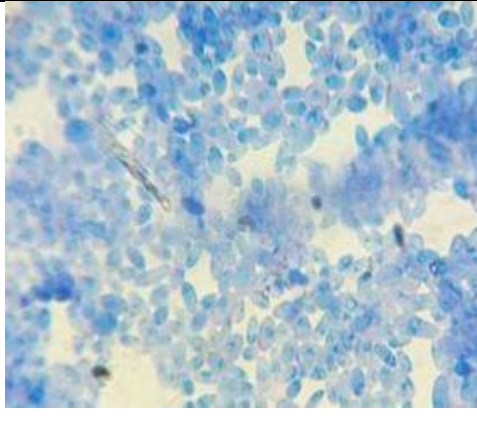
<p>Observation macroscopique</p>		<p>*Des colonies crémeuses de couleur blanche opaque, de taille moyenne et de surface lisse de forme ovoïde et ont une odeur de levure de boulangerie.</p>
<p>Observation microscopique</p>		<p>*La forme végétative est rendue grande</p>
<p>Aptitude de la filamentation</p>		<p>*Présence de mycélium</p>

Tableau n°07 : Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche t 03. Dans le milieu PDA


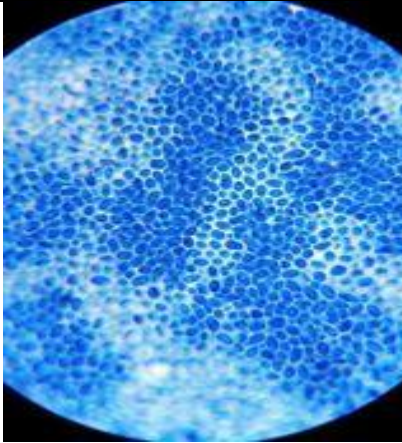


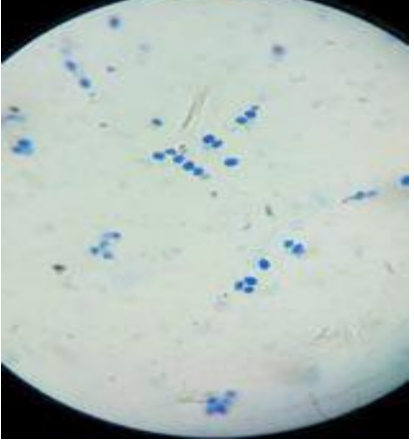
<p>Observation macroscopique</p>		<p>*Des colonies crémeuses de couleur blanche opaque, de taille moyenne et de surface lisse de forme ovoïde et ont une odeur de levure de boulangerie.</p>
<p>Observation microscopique</p>		<p>*La forme végétative est rendue grande</p>
<p>Mode de reproduction</p>		<p>Asexuée Bourgeoisement</p>

Tableau n°08 : Observation microscopique, macroscopique et les caractères morphologiques chez la souche 03. Dans le milieu YPG

<p>Observation macroscopique</p>		<p>*Des colonies crémeuses de couleur blanche opaque, de taille moyenne et de surface lisse de forme ovoïde et ont une odeur de levure de boulangerie.</p>
<p>Observation microscopique</p>		<p>*La forme végétative est rendue grande</p>

Selon les caractères macroscopiques et microscopiques, toutes les levures sont caractérisées par une forme sphérique.

L'isolement des levures est effectué à partir du jus de raisin fermenté. Une goutte du jus a été étalée sur les boîtes de Pétri contenant YPG.

Après 24 heures d'incubation à 25°C, des colonies de levures ont été purifiées puis identifiées.

Après l'incubation, deux couleurs sont absorbées : blanche (concernant la souche 01 et la souche 02 et 03), la forme des colonies a été identique (sphériques) pour toutes les souches.

Conclusion

La fermentation alcoolique, processus intracellulaire, consiste pour la levure *S.serevisia* à dégrader le sucre présent dans le jus des dattes pour tirer l'énergie avec production d'alcool, durant ce processus que nous avons étudié dans cette recherche.

Au terme de ce travail, pour tous les tests macroscopique et microscopique, des souches de levures ont été isolées à partir du jus des dattes sur un milieu de culture (PDA + YPG), Ainsi et concernant les tests de sporulation, aptitude à la filamentisation les résultats obtenus étaient les suivants :

- Dans les type 1 et 2 des dattes on a pu isoler des levures.
- Les dattes de type 3 « Deglet Nour» contiennent différentes espèce leveuriennes et après l'isolement et la purification suivie par des tests de confirmation nous avons pu identifier la levure *S.serevisia*.

Bien que les dattes aient été bien emballées, le jus a été contaminé cela peut s'expliquer par plusieurs raisons, notamment, « Deglet nour» riche en sucres, ce qui est un environnement favorable pour la croissance de *S.serevisia*, aussi en raison d'une mauvaise conservation.

Référence Bibliographique

A

-Anonyme : <http://www.blogagroalimentaire.com>

-Assirey A.R. Nutritional composition of fruit of 10 datte palm (Phoenix dactylifera L) cultivars grown in Saudi Arabia. Departement of chemistry .College of science, TAIBAH University, Journal of TAIBAH University for science 9 (2015) 75-79

-Acaurene S, Tamo M.(1997), caractérisation physicochimique des principaux cultivars de datte de la région de Ziban.Revue recherche Agronomique .Ed .INRAA N° pp 59-66.

-Abou-Zeid, A, Anebehe O. Baghlaf, (1991) The formation of oxytetracycline in a date coat medium – Bio Resource technologie ,37.

- Albert L, (1998) : la santé par les fruits Ed.Veechi, 44-74.

- AL –SHAHIB.W et Marshall, R.J. (2002) : Dietary fibre content of datte from 13 Varieties of datte palm Phoenix dactylifera L, International Journal of Food Science and Technology,37,719-721.

-AL –Hoots S, Sidhu J.S et QaBazard H.(1997) , Physiochemical characteristics of five datte fruits cultivars grown in The United Arab Emirates . Plant Food for Human Nutrition (50) :101-113.

-Alais.C,Linden G,(1997).Biochimie alimentaire .4eme édition Masson, Paris

-Amirat Aicha et Bensaci Imane.Classification de quelque cultivars de datte molles Algériennes selon leurs index glycémiques.(2017).Université KasdiMerbahOuargla.

B

-Bourat.G.(1992) : propriété des Micro-organismes , traité génie des procédé .Journal de technique de l'ingénieur. Paris.volum 6.

-Bouix .M, Leveau J.Y.(1993) : Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intrêt industrielle .ED .tec et Doc Lavoisier .pp :612.

-Bouix.M,Leveau J.M.(1991).Les Levures Ds :BourgeoisC.M.LeveauY.J.Thecnique d'analyse et de contrôle dans l'industrie Agro-alimentaire ,ED 21.Lvoisier –Tec et Doc

-Bourgeois C.M et Larpent J.P.(1996) : Microbiologie Alimentaire , Aliments fermentés et fermentation Alimentaires.Tome 2.Ed.France.P :35-130.

-Boze .H et Maulin .G et Galzy .P (2008) : Production Of microbial Biomasse in biotecnologie.(Wiley –VCH-Verlag –GMBH),pp166.

C

-Cheftel J,Cheftel C.(1977) Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments Vol I,4eme tirage .Ed. Tec et Doc,Paris.367p.

D

-Djerbi M., 1994. Précis de phoeniciculture. FAO, p : 192.

-Dujon .B.(2010). « YeastEvolutionary Genomies » Nature Reviews Genetic.

-Djoudi Imane,contribution à l'identification et la caractérisation de quelques accessoires de palmier dattier (Phoenix Dactylifera .I)dans larégion de Biskra –Université Mohamed Kheider Biskra – Faculté des sciences exactes et Sciences de la nature agronomique .2013.

E

-Espiard .E.(2002) : Introduction à la transformation industrielle des Fruits .Ed. Tech et Doc – Lavoisier 360p.

-Estanove, P(1990) .Note technique :Valorisation de la datte In options méditerranéennes, Série A,N°11.Systèmes agricoles Oasiens .Ed.CIHEAM.301-318.

-Etievant .P (1991).Les aromes Produits chimique ou naturels ?INRA Mensuel, 58.

F

- Favier J.C,Oreland .R.J.Laussucq C,Feinberg.M(1995).Répertoire général des aliments .Table de comparision des fruits exotiques,fruits de cueilleted' Afrique .Tome3 .Ed Orstom, Lavoisier,Inra Edition : pp27.28.

-Fiess. M.(1995) :Additifs 1995 :L'Europe enfin harmonisée.RIA545.

G

- Galzy. P, Moulin G, et Adrian (1996)** : présence et utilisation des levures en alimentation Humaine p656-662.
- Gaillard J. L., Leclerc H., Simonet M., 1995.** Microbiologie générale. (Ed) Doin. Paris, p : 535
- Ghozi.F , Sahraoui S (2005)** .évolution des composés phénoliques et des caracténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantboucht et Hamaraia , Mémoire d'ingénieur .Institut national d'agronomie .Alger .81p.
- Goffeau. A, Barrell. B.G.Bussey.H et Davis R.W.(1996)** .Life With 6000 genes .sciences .P :563-574/Thuriaux .P.(2004) :Les organismes modèles de la levure .Ed. Belin .P :15,17,23 et 44.
- Guiraud .J.P. (1998)** : Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris
- Guiraud .J.P et Rose J.P. (2004)** : Pratique de normes en microbiologie alimentaire AFNOR .P ; 228-235
- Guinet .R, Godon .B . (1994)** : la panification Française .Ed . Tec et Doc. P : 521
- Gournier .N, Larpent .P et Castellanois. M (1994)** : les pro-biotiques en alimentation animale et humaine. Ed. Tec et Doc-Lavoisier, p : 192

H

- Hencké Stéphanie(2000)** : Thèse présentée et soutenue publiquement pour obtenir :L'édoupe de l'état de Docteur en pharmacie : « utilisation alimentaire des levures » ,Université Henri Poincaré Faculté de pharmacie .
- Hermier.R,Lenoir.R et Weber F(1992)** :Les groupes microbiens d'intérêt laitiers Ed.CEPIL (centre de ment des cadres des industries du lait).p.568.
- **Hunter .P(1977).**General Microbiology : The student's text book . C.V.Mosby,179-183/out sur la levure.la levure qu'est –ce que c'est ?[en ligne] : disponible sur :<http://www.toutsurlalevure.fr/>.[consulté le 08/11/12]

K

- Kaidi. F et Touzi. A . (2001)** .Production de bio-alcool à partir des déchets de dattes. RevEnergRen : Production et valorisation-Biomasse, 75-78
- Kreger N-J (1984)** : the yeast a taxonomie study / **Sherped .M-G. (1988)** : évidence for a glucosidic in the cellwall of candida albicans. Pp : 359-368
- Kurt Zman C.P. (2011)**. Discussion of teleomorphicAnamorphicAscomycetous and Yeasts-likeTaxa . In : C.P. **Kurtzman.J.W.**Fell, T.Boekhout, the yeast , a taxonomicStudy ; Elsevier, london, pp : 304

L

- Larpent. I.P. (1991)**. Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires (produits laitiers et carnés) Ed. APRIA. P : 242
- Labrecque.M-H. (2003)** : Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène, Mémoire pour l'obtention de grade de maitre de sciences.
- Larpent J.P ; Gourgoud M, 1985**, Elément de microbiologie, Ed, Herman, Paris, p 464.
- Larpent- Gourgoud et Sanglier., (1992)** ; Biotechnologies. Principes et méthodes : 574-581.
- Lecler. H. (1975)** : Microbiologie générale, Doin éditeurs, Paris. P : 28/ **Oteng-Gyang.K. (1984)**. Introduction à la microbiologie dans les pays chauds ; Ed ; Lavoisier. Paris. pp : 43-51
- Lee .S, Villak. Et Patino .H. (1995)**. Yeastsstraindevelopment for enhanced production of desirablealcohol in beer, J Amer Soc Brewchem , 53 (4) : 153-156
- Lerch K et Schillina B (1992)**.Towardsapplyingmoleculargenetics for naturalfavors. In « 12 international congress of flavours, gragans and essential oil ». Vienne. Austria ; 4-5 octobre, pp : 157-163

M

- Mercier C, 1997**. Transgènes et modification quantitative et/ou qualitative de la composition de lait à de fins nutritionnels. In : Frend G. Ed, intérêts nutritionnels et diététique du lait de chèvre. Nord-France, p 169 - 177.

-Moll. N. Moll. M. (1990). Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques Edit Masson, Paris. p : 83

-Munier. P. (1973). Le palmier dattier. Technique agricole et production tropicale. Ed. Larousse, Paris, p : 22-43

N

-Noui Y, 2001. L'optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur un extrait de datte. Mémoire d'Ingénieur. Institut d'Agronomie. Université de Batna, p : 62.

S

- Scriban R, 1984. Biotechnologies. 2ème édition. Techniques et Documentation-Lavoisier. Paris. p : 531

-Siboukeur O (1997). Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de datte. Thèse de Magister, INA, El-Harrach, Alger, p : 106

-Sidabtech (04/12/20117). La datte algérienne. Biskra : la 3ème Salon internationale de la datte de Biskra.

-Smidats.S (2011) : Modélisation et analyse, globale et locale , de réseaux d'interactions biologiques hétérogènes (RIBH) appliquée à la levures ; Thèse de doctorat, Université d'Évry.

-Simon P ; Meunier R, 1970. Microbiologie industrielle et génie biochimique. Masson ET Cie, Editeurs. Paris Vie : 31-47, 385-411.

-Staron T., (1977). Les protéines non conventionnelles pour l'alimentation humaine Dans la communié économique Européenne .Ed. Apria, Paris. p : 559

O

-Omelianskiv.L . (1923) : Aroma-production microorganismes. J Bactériale, 8(10) : 393-419

P

-**Parrou J.L ; Teste M.A ; François M, 1997.** Effect of various types of stress on the metabolism of reserve carbohydrates in *Saccharomyces cerevisiae*: genetic evidence for a stress-induced recycling of glycogen and trehalose. *Microbiology*, 143; p 1891 – 1900.

-**Pol .D (1996)** : Travaux pratique de biologie des levures. 158. pp : 21-151

R

-**Rose A.H; Harrison J.S, 1971.** *The Yeast*. Vol. 4, 2^{ème} édition, p 297 - 345.

Les Annexes

Le milieu Yeast peptone glucose (YPG)

1- Domaine d'utilisation :

Le milieu Yeast peptone glucose (YPG) est recommandé pour la purification de levures en précise *S. cerevisia*.

2- Préparation :

- peptan.....20g.
- extrait de levure.....10g.
- glucose20g.
- Agar.....20g.
- Eea1 litre .

Gélose Glucosée A l'extrait de pomme de terre (PDA) :

Détections et dénombrements des levures et moisissures.

1- Domaine d'utilisation :

Gélose Glucosée A l'extrait de pomme de terre (PDA) et utilise pour l'isolement la culture et les dénombrements des levures et moisissures dans les produit alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

2- Principes :

Les teneurs en glucose et en extrait de pomme de terre favorisent la culture des levures et des moisissures.

Le pH acide inhibe la pluparts des bactéries

3. Préparation :

Pour 1 litre de milieu :

-Extrait de pomme de terre40g

-Glucose.....20g

-Agar Agar bactériologique.....15g

pH de milieu prêt-à-l'emploi à 25°C ;5,6 +/- 0,2

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min

- 4.0g d'extrait de pomme de terre correspond à 200g d'infusion de pomme de terre.

4. Mode d'emploi :

-Couler environ 15ml de milieu dans une boite de Pétrie.

-laissez solidifier sur une surface froide.

-Incuber à 20°C-25°C pendant 3 à 5 jours.

5. lecture :

Dénombrer séparément les levures et les moisissures ; faire un test rapide de confirmation au microscope sur chaque type de colonies rencontré.